

Universidad de Granada
Facultad de Ciencias



ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO DE LA
VERTICILOSIS DEL OLIVO (*Verticillium
dahliae*, [Klebahn 1913]) EN LA PROVINCIA DE
GRANADA

TESIS DOCTORAL

Estefanía Rodríguez Navarro

Granada, 2006

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Estefanía Rodríguez Navarro
D.L.: Gr. 2101 - 2006
ISBN: 84-338-4129-7

ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO DE LA VERTICILOSIS DEL OLIVO
(*Verticillium dahliae*, [Klebahn 1913]) EN LA PROVINCIA DE GRANADA

Memoria presentada para optar al grado de Doctor en Biología por
la licenciada Estefanía Rodríguez Navarro a octubre de 2006

Fdo. : Estefanía Rodríguez Navarro

Vº Bº

Mercedes Campos Aranda,
Investigador Científico de la
Estación Experimental del Zaidín.
CSIC. Granada

Vº Bº

Jose Manuel García Garrido,
Científico Titular de la
Estación Experimental del Zaidín.
CSIC. Granada



MINISTERIO
DE EDUCACION
Y CIENCIA



CONSEJO SUPERIOR DE
INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

MERCEDES CAMPOS ARANDA Y JOSE MANUEL GARCIA GARRIDO,
Investigador Científico y Científico Titular, respectivamente, del Consejo Superior de
Investigaciones Científicas de la Estación Experimental del Zaidín de Granada

INFORMAN,

Que el trabajo **Estudio epidemiológico de la Verticilosis del olivo (*Verticillium dahliae*, [Klebahn 1913]) en la provincia de Granada**, realizado por la licenciada doña Estefanía Rodríguez Navarro bajo nuestra dirección, se considera ya finalizado y puede ser presentado para su exposición y defensa como Tesis Doctoral en la Universidad de Granada.

Granada, octubre 2006

Fdo. Dra. Mercedes Campos Aranda

Fdo. Jose Manuel García Garrido

Este trabajo ha sido realizado en el Departamento de Agroecología y Protección Vegetal y en el Departamento de Microbiología del Suelo y Sistemas Simbióticos de la Estación Experimental del Zaidín (CSIC), gracias a una beca predoctoral asociada al proyecto: **Estudio epidemiológico de la Verticilosis del olivo en la provincia de Granada**, financiado por la Fundación Caja Rural de Granada.

A Emilio
A mis padres

Agradecimientos

Esta tesis nace recogiendo el interés y la preocupación de la Caja Rural de Granada por la problemática que la Verticilosis del Olivo supone para el olivar granadino, por lo que agradezco a la Fundación Caja Rural de Granada la financiación de este proyecto. Asimismo, quisiera expresar mi gratitud al Gabinete Técnico en la persona de su director Don Antonio León Serrano, por su atenta disposición en proporcionarnos toda la ayuda necesaria y brindarnos todas las facilidades en las materias burocráticas.

A Mercedes Campos Aranda, mi directora, de quien he aprendido mucho científica y humanamente. Para mí ha sido un orgullo realizar esta tesis bajo su dirección. A ella le debo todo el camino recorrido, agradeciéndole todo el afecto y confianza demostrados, además de sus comentarios, consejos, y estímulo continuo durante todos estos años.

A mi director, José Manuel García Garrido por su disponibilidad y el apoyo incondicional mostrado y por el tiempo dedicado a disipar toda mi confusión y mis dudas, para mí ha sido una suerte contar con su valioso asesoramiento científico en cada fase del trabajo.

Quisiera expresar mi más sincero reconocimiento a todos los agricultores cuyas parcelas formaron parte de este estudio, ellos son los primeros responsables de la existencia del mismo. Agradezco a las cooperativas asociadas al sector oleícola granadino, Virgen de la Cabeza, Fuentes de Cesna, Almazara de Montillana, Los Tajos, La Esperanza del Campo, Ntra. Sra. de la Cabeza (Cúllar), Ntra. Sra. de la Cabeza (Zújar), Santa Isabel, Santa Mónica, Ntra. Sra. de los Remedios, Ntra. Sra. del Perpetuo Socorro y San Rogelio, el facilitarme toda la información necesaria sobre los propietarios de olivar. Especialmente agradezco la disponibilidad de las cooperativas de Montevilla, San Sebastián, Olialhambra, Templeoliva, Hacholiva y San Isidro. Personalmente agradezco a los técnicos Jose, Fernando, Jose Antonio Rodero, Felipe, Pablo Matos, Emilio Montero, Leonardo Núñez, Marcos y Cano Judith, la implicación e inquietud mostrada por la temática de este proyecto.

Deseo expresar mi agradecimiento a Don Rafael Jiménez Díaz del Instituto de Agricultura Sostenible (CSIC) de Córdoba por haber contribuido notablemente en

aspectos que afectan a la concepción y organización general de este estudio, y a Don José Bejarano Alcázar del IFAPA de Córdoba por el interés y el ánimo mostrado en todo momento por el desarrollo de la investigación.

Mi más sincero agradecimiento a Don José Olivares Pascual, por la revisión del manuscrito y por sus acertados comentarios a lo largo de la realización de mi tesis doctoral que indudablemente contribuyeron a mejorar el trabajo.

A Don Juan Antonio Ocampo Bote y a su equipo científico, Julia, Pepe, Inma García, Inma Sampedro, Gloria, Eli, M^a José, Maribel, M^a Ángeles, que en todo momento me han prestado su ayuda y me han hecho sentir parte de su equipo. Todos ellos demuestran que el buen ambiente de trabajo y el rendimiento van de la mano.

A Felipe Pascual le agradezco su ayuda en los trámites burocráticos y su asesoramiento en materias universitarias a lo largo de todos estos años

Otras muchas han sido las personas que me han brindado su apoyo; a todo el personal de biblioteca y muy especialmente a Licy por su profesionalidad y ayuda. A Virginia, por arrancarme siempre una sonrisa por las tardes y por dejarme la merienda encima de la mesa más de una vez. A Aránzazu, Rosa, M^a José Lorite, Sol, Diana y Mariu por el interés mostrado. A Carolina por su eficacia con las interminables muestras de laboratorio. A las que ya defendieron su tesis, Raquel e Iva, con las que aún hoy día mantengo su amistad y su apoyo.

A Rogelio Nogales, por su preocupación por todos los integrantes del departamento, por sus desvelos con los nuevos laboratorios para ofrecernos lo mejor y por crear un clima de trabajo agradable, muchas gracias. A todos los compañeros del Departamento de Agroecología y Protección Vegetal de la EEZ. A Esperanza, Emilio, Amparo, Bea y Astrid, Juan Sánchez Raya, gracias por todos los detalles y por los buenos momentos compartidos.

En el transcurso de esta tesis también he tenido la suerte de encontrar en mi camino a mujeres científicas como Francisca Ruano y Mariam Sahrawy, de las que he aprendido mucho en todos los aspectos y con las que compartí momentos únicos y de calidad, gracias a las dos.

A Mario y Germán que han compartido conmigo el trabajo de campo con la mejor disposición a lo largo de estos años. Gracias Mario por transmitirme tus conocimientos como agrónomo de los que yo carezco. Gracias Germán, porque a pesar de las dificultades que el trabajo de campo supone, siempre ha sido algo gratificante y divertido. Estoy convencida que el muestreo se ha realizado dentro de los plazos establecidos gracias a tu trabajo. A ambos gracias por vuestra amistad.

Por muchas discusiones y sugerencias útiles estoy en deuda con mis compañeros-amigos de trabajo, con los que además, he compartido preguntas, fatigas e ilusiones:

A mis incondicionales Laura y Lourdes, no podría resumir todo lo que vuestra ayuda ha supuesto para mí todo este tiempo. Profesionalmente he aprendido mucho de vuestra capacidad de trabajo y buen criterio. Gracias Laura por tu amistad y por las risas compartidas, sin duda echaré de menos el apoyo mutuo y nuestras magníficas charlas. A Lourdes por las experiencias que hemos vivido juntas entre ellas, tu tesis y por supuesto Laurita.

A Belén, gracias ante todo por tu amistad, tus siempre interesantes consejos, tu sincero apoyo y tu pasión por todo lo que haces incluida la ciencia, entre otras mil cosas más.

A Luisa, gracias por tu alegría y generosidad y estar disponible siempre con la mejor sonrisa todas las veces que te he necesitado que han sido incontables.

A Celia, gracias por transmitirme cada mañana todo tu optimismo y vitalidad. A Jesús, gracias por la confianza que siempre ha mostrado en mí, y por subirme el ánimo miles de veces. A Carlos, gracias por la motivación durante la fase de escritura. A los tres gracias por haberme hecho sentir feliz y con fuerza.

A Herminia, gracias por tu compañía todos estos años y tu ayuda en el laboratorio en mil cosas, grandes y pequeñas.

A mi compañera Rebeca por estar siempre disponible.

A Antonio y Marisa con los que compartí maravillosas sobremesas de conversaciones y ánimo.

Finalmente, a los que empiezan como Mario, porque de alguna u otra forma pusieron su granito de arena, les deseo la mejor de las suertes y que disfruten tanto como yo le he hecho.

A mi familia, por brindarme todo el apoyo y ayuda que he necesitado. A mi padre por todo su cariño y por estar dispuesto a ayudarme a cualquier hora. A mi madre que ha sido fuente de inspiración para mí por su incansable labor cotidiana que ha hecho más fáciles las interminables horas de laboratorio.

Finalmente quiero expresar con todo mi cariño mi agradecimiento a Emilio, a quien le debo buena parte de las ideas y pensamientos aquí expuestos y por haber sido mi luz a lo largo de estos años. Él sabe lo gratificante que ha sido para mí realizar esta tesis, mostrándome siempre el amor y el apoyo necesario para que yo pudiera llegar hasta aquí a pesar de la distancia y de invertir parte de nuestro tiempo libre. Gracias por tus palabras de ánimo diarias que me sirvieron aliento para seguir adelante.

Índice de contenidos

	<u>Págs.</u>
OBJETIVO E INTERES DEL TRABAJO.....	1
CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN	
1.1 El olivo	7
1.1.1 El árbol	7
1.1.2 El aceite de oliva y la salud	8
1.1.3 Localización geográfica.....	9
1.2 El cultivo del olivo	10
1.2.1 Mercado mundial	10
1.2.2 La olivicultura en España y Andalucía	11
1.3 El olivar en la provincia de Granada	11
1.3.1 Superficie y producción.....	11
1.3.2 Distribución geográfica	12
1.3.3 Aspectos agronómicos	13
1.3.3.1 Riego	14
1.3.3.2 Densidad de plantación	14
1.3.3.3 Olivos de nueva plantación	15
1.3.3.4 Variedades de olivo	16
1.3.4 Comarcas olivareras granadinas	18
1.3.4.1 Comarca del Norte	18
1.3.4.2 Comarca de la Vega	20
1.3.4.3 Comarca Alhama-Temple	23
1.3.4.4 Comarca del Sur	24
1.3.4.5 Comarca del Levante.....	27
1.4 Evolución del cultivo del olivo	30
1.4.1 Antecedentes.....	30

1.4.2 Concepto de la nueva olivicultura	30
1.4.3 Agricultura sostenible.....	31
1.4.4 Tipos de olivar	32
1.5 Plagas y enfermedades del olivo	33
1.6 Verticilosis.....	35
1.6.1 Género <i>Verticillium</i> (Nees 1817).....	35
1.6.1.1 Las especies patógenas más importantes.....	36
1.6.2 Ciclo de vida de <i>Verticillium dahliae</i>	39
1.6.3 Huéspedes de <i>Verticillium dahliae</i>	41
1.6.4 Variabilidad en <i>Verticillium dahliae</i>	41
1.6.4.1 VCGs.....	42
1.6.4.2 Patotipos.....	43
1.6.5 Densidad de inóculo y dispersión	44
1.6.6 <i>Verticillium dahliae</i> y el cultivo del olivo	47
1.6.6.1 Distribución e importancia	47
1.6.6.2 Sintomatología y daños	48
1.6.6.3 Recuperación de los síntomas	50
1.6.6.4 Variedades resistentes	51
1.6.6.5 Papel de las cubiertas vegetales	52
1.6.7 Estrategias de control integrado de la Verticilosis.....	52
1.7 Métodos de detección y diagnóstico de <i>Verticillium dahliae</i>	56
1.7.1 Detección en planta y caracterización de sus patotipos	57
1.7.2 Detección en el suelo	59
1.8 Sistemas de información geográfica (SIG).....	60
1.8.1 Concepto.....	60
1.8.2 Base de datos SIG	61
1.8.3 Organización de los datos en un SIG.....	61

CAPITULO 2. MATERIAL Y METODOS

2.1 Técnicas de diseño de muestreo y de procedimiento en campo	65
2.1.1 Diseño experimental del muestreo.....	65
2.1.2 Unidad de muestreo.....	67
2.1.3 Encuestas, formulario y recopilación de datos	68
2.1.4 Recogida, preparación y conservación de las muestras biológicas.....	70
2.2 Técnicas de laboratorio.....	74
2.2.1 Medios de cultivo	74
2.2.2 Protocolo de aislamiento de <i>Verticillium dahliae</i>	75
2.2.3 Identificación del patógeno.....	76
2.2.4 Cultivos monospóricos	77
2.2.5 Conservación de <i>Verticillium dahliae</i> a largo plazo	79
2.2.6 Catalogación de los patotipos	79
2.2.6.1 Cultivos líquidos de los aislados	80
2.2.6.2 Liofilización y molturación del micelio	80
2.2.6.3 Extracción, cuantificación y electroforesis del ADN	80
2.2.6.4 Reacción en cadena de la polimerasa.....	81
2.3 Técnicas de procesamiento de datos.....	82
2.3.1 Base de datos SIG.....	82
2.3.2 Organización de los datos SIG	83
2.3.3 Elaboración del mapa de riesgos	86
2.3.4 Análisis y técnicas estadísticas utilizadas.....	87
2.3.4.1 Parámetros estudiados.....	88
2.3.4.2 Tablas de contingencia.....	89
2.3.4.3 Contrastes t-Student	89
2.3.4.4 ANOVA (Análisis de la varianza) de un factor.....	90
2.3.4.5 Mapas de escalamiento óptimo	90

CAPITULO 3. RESULTADOS

3.1 La Verticilosis del olivo en la provincia de Granada.....	93
3.1.1 Estudio epidemiológico	93
3.1.2 Prevalencia, incidencia y distribución geográfica de la Verticilosis del olivo en la provincia de Granada.....	94
3.1.3 Análisis de los patotipos de <i>Verticillium dahliae</i>	96
3.1.3.1 Severidad de los patotipos.....	99
3.2 La Verticilosis del olivo y aspectos agronómicos	100
3.2.1 Régimen de cultivo: secano/regadío	100
3.2.1.1 Patotipos.....	100
3.2.1.2 Comarcas olivareras.....	103
3.2.2 Densidad media de plantación (olivos/ha).....	105
3.2.2.1 Patotipos.....	109
3.2.2.2 Comarcas olivareras.....	109
3.2.3 Usos previos del suelo	112
3.2.3.1 Patotipos.....	112
3.2.3.2 Comarcas olivareras.....	114
3.2.4 Procedencia del material vegetal	116
3.2.4.1 Comarcas olivareras y patotipos	118
3.2.5 Las variedades de olivo	120
3.2.5.1 Patotipos.....	121
3.2.5.2 Variedad y edad de los olivos	123
3.2.5.3 Comarcas olivareras.....	123
3.2.6 Edad de la plantación.....	128
3.2.6.1 Patotipos.....	131
3.2.6.2 Comarcas olivareras.....	132
3.3 Mapas de escalamiento óptimo.....	134

3.3.1 Comarca del Norte.....	134
3.3.2 Comarca de La Vega	135
3.3.3 Comarca de Alhama-Temple.....	136
3.3.4 Comarca del Sur	136
3.3.5 Comarca del Levante.....	138
3.4 La Verticilosis del olivo y las condiciones ambientales	138
3.5 Mapa de riesgos.....	145
CAPITULO 4. DISCUSION	
4.1 La Verticilosis del olivo en la provincia de Granada.....	149
4.1.1 Patotipos	151
4.1.2 Comarcas oleícolas granadinas.....	152
4.2 Distribución espacial de la Verticilosis del olivo	155
4.3 Origen de la Verticilosis del olivo y de su aislado defoliante en la provincia de Granada.....	157
4.4 La Verticilosis del olivo y aspectos agronómicos relacionados	163
4.4.1 Riego	163
4.4.2 Densidad de plantación.....	166
4.4.3 Edad.....	166
4.4.4 Variedades	169
4.5 La Verticilosis del olivo y las condiciones ambientales relacionadas	172
CONCLUSIONES.....	177
BIBLIOGRAFIA.....	181

Algunas siglas más utilizadas

AAO: Agencia para el Aceite de Oliva

CAP: Consejería de Agricultura y Pesca

COI: Consejo Oleícola Internacional

D: Defoliante

DAP: Empresa Pública para el Desarrollo Agrario y Pesquero de Andalucía

I: Incidencia

IEA: Instituto de Estadística de Andalucía

MAPA: Ministerio de Agricultura y Pesca

MC: Microesclerocios

ND: No defoliante

OCM: Organización Común de Mercados

P: Prevalencia

RAEA: Red Andaluza de Experimentación Agraria

SIG: Sistemas de Información Geográfica

SIGA: Servicio de Información Geográfico Agrario

SIMA: Sistema de Información Multiterritorial de Andalucía

UNCTAD: United Nations on Trade and Development

VCG: Vegetative Compatibility Groups (Grupo de compatibilidad vegetativa)

VO: Verticilosis del Olivo

OBJETIVO E INTERES DEL TRABAJO

La Verticilosis del olivo (VO) es una enfermedad causada por el hongo de carácter vascular *Verticillium dahliae*. La extensión y severidad de los ataques de Verticilosis en el olivar español, particularmente en las plantaciones de alta densidad y regadío establecidas durante los últimos años, son motivo de preocupación creciente y justificada tanto en el sector oleícola nacional, como en el sector técnico, dado que los especialistas la consideran la limitante sanitaria más importante que tiene el olivo debido, principalmente, a la problemática que presenta su control.

Uno de los aspectos que dificulta el control de la Verticilosis del olivo es la existencia de dos razas o patotipos del agente patógeno, denominadas defoliante (D) y no defoliante (ND). Los aislados defoliantes son más virulentos y suelen provocar la muerte de la planta a la que infectan y es probable que provoquen epidemias más severas que los aislados no defoliantes.

Las estimaciones sobre la prevalencia de la Verticilosis del olivo en España varían entre el 38,5% registrado en los años 1980-1983 y el 39,3% de los años 1994-1996. Para provincias limítrofes a Granada, como Jaén, se han descrito prevalencias del 30% en los años 2001-2003. También fuera de Andalucía hay indicios de que la enfermedad se ha establecido en otras zonas olivareras de la península, como Castilla - La Mancha y la Comunidad Valenciana. En cuanto a la incidencia, se estima entre el 10-90%, con media del 10%, o del 1,05% en algunas zonas como la Sierra de Cádiz, lo que supone un total de 13000 árboles muertos o enfermos. En las prospecciones de los años 80 se indicó que la VO estaba bien establecida en olivares de Jaén y Córdoba, pero que era menos prevalente en las provincias de Sevilla y Granada. La información disponible sobre la distribución geográfica de la Verticilosis del olivo indica que los ataques de la enfermedad en España son causados mayoritariamente por aislados del patotipo ND, sin embargo, de especial relevancia son los recientes ataques del patotipo D del hongo en las provincias de Sevilla, Córdoba, Jaén y Granada, donde se ha extendido desde el lugar de su primera detección en las Marismas del Guadalquivir.

La extensión de la Verticilosis del olivo no es posible entenderla sin haber comprendido la evolución del cultivo y su historia más reciente. Aparentemente, la enfermedad ha ido unida a la modernización y extensión del cultivo del olivo. Los aspectos en los que se fundamenta este incremento en la gravedad de la enfermedad no están bien establecidos, pero podrían ser una consecuencia de varios factores. En primer lugar, la reforma de la Organización Común de Mercados (OCM) y la escasez de cultivos alternativos, condujeron a un aumento en el número de árboles plantados y

en la superficie de cultivo, lo que provocó la utilización de suelos infectados por el patógeno. También ha debido contribuir el desarrollo de una industria viverística que permite obtener rápidamente millones de plantas a un coste relativamente bajo y orientado a obtener plantas muy precoces en producción y de un solo tronco. Esto puede implicar el empleo de forma inadvertida de material de vivero infectado y/o portador en la propia maceta de suelo infectado. En segundo lugar, la rápida dispersión de los aislados del patógeno extremadamente virulento a través de las principales zonas de cultivo de Andalucía ha provocado, sin duda, epidemias más severas y ataques más evidentes. Finalmente, las técnicas de cultivo aplicadas en las nuevas plantaciones, como utilizar preferentemente variedades de olivo más productivas y precoces, pero susceptibles al patógeno, así como la transformación en regadío de una importante superficie cultivada de secano, han debido contribuir a la difusión y extensión de la enfermedad. Esta Nueva Olivicultura se caracteriza por ser altamente productiva, e indudablemente, ha reportado grandes beneficios. Sin embargo, también ha provocado serios perjuicios ecológicos en el olivar. La aplicación de este nuevo concepto de las plantaciones de olivar ha desembocado en un proceso de homogeneización y uniformidad paisajística, además de provocar grandes cambios en la diversidad de las especies. Uno de los problemas más importantes a los que se enfrentan los sistemas agrícolas actuales es la pérdida de diversidad, y el olivar no es excepción. Reducciones en la diversidad incrementan la vulnerabilidad del ecosistema a invasiones de agentes nocivos, lo que puede haber contribuido a una mayor incidencia de enfermedades como es el caso de la Verticilosis.

El control de la enfermedad no ha sido eficiente ya que, debido a la naturaleza etiológica y epidemiológica del hongo, las medidas más adecuadas para combatirla son precisamente las medidas preventivas que además son las recomendadas por la agricultura sostenible, pero que desafortunadamente, son las menos utilizadas.

Por lo tanto, este panorama describe de modo resumido la situación actual de la Verticilosis del olivo en España. Sin embargo, carecemos de estudios epidemiológicos realizados a nivel más amplio, no exclusivamente en zonas restringidas, y totalmente al azar, que cuantifiquen la enfermedad y otras variables agronómicas y/o ambientales de interés. La epidemiología tiene entre uno de sus objetivos primordiales el estudio de la distribución y los determinantes de las diferentes enfermedades. La cuantificación y la medida de la enfermedad y de las variables implicadas son elementos fundamentales para formular y testar hipótesis, así como para permitir comparar la importancia de la VO entre diferentes poblaciones y comparar la importancia relativa de la VO en diferentes periodos de tiempo.

Esta valiosa información nos permitiría determinar la amenaza real que la Verticilosis representa para el olivar, cobrando especial relevancia en el caso del aislado defoliante. La lucha contra plagas y enfermedades de los cultivos, bajo la perspectiva de una agricultura sostenible, es uno de los objetivos de gestión y manejo más perseguido en las últimas décadas. Para utilizar con éxito estos nuevos sistemas de control es de especial interés el conocimiento del ecosistema, fundamentalmente de los factores que regulan las poblaciones de los agentes nocivos, como son por ejemplo, la climatología.

El objetivo general de esta tesis es conseguir los conocimientos necesarios a nivel epidemiológico para la mejor predicción y control de la Verticilosis del olivo mediante un muestreo representativo del olivar granadino. Aunque la investigación se haya realizado en la provincia de Granada, dado que las diferentes tipologías de olivar están prospectadas de forma representativa, los resultados obtenidos pueden ser aplicables a otras zonas oleícolas.

En este estudio se ha contado con herramientas de trabajo actuales y poderosas como son los Sistemas de Información Geográfica (SIG) y la Biología Molecular, las cuales conducen a un estudio epidemiológico más completo. La Técnica de PCR permite caracterizar los aislados ND y los aislados D muy virulentos de *V. dahliae*, mientras que los SIG, son una herramienta más a la hora de distinguir y explicar la biogeografía del patógeno y de sus patotipos.

Para conseguir el objetivo general se han planteado los siguientes objetivos parciales:

- Determinar la distribución geográfica de la Verticilosis del olivo y cuantificar la enfermedad mediante la determinación de los parámetros de prevalencia e incidencia en la provincia de Granada.
- Conocer la distribución geográfica y cuantificar los aislados, defoliante y no defoliante de *V. dahliae*, precisando sus principales vías de entrada y dispersión.
- Establecer las variables agronómicas que más influyen en la prevalencia e incidencia de la Verticilosis del olivo.
- Comprobar si existen variables ambientales que determinen un patrón de distribución de la Verticilosis del olivo.

Introducción

1.1 EL OLIVO

1.1.1 El árbol

Origen. El olivo es un árbol muy arraigado en la cultura mediterránea. Su origen se sitúa en el año 4000 a de C. en la antigua Mesopotamia, en las actuales naciones de Irán y Siria, aunque existen referencias históricas de su cultivo en la mayoría de las culturas del Próximo Oriente y Mediterráneo Oriental. Las distintas civilizaciones que se desarrollaron en la cuenca del mediterráneo dispersaron el olivo con sus desplazamientos, dibujando ambos un mismo mapa geográfico. Griegos y fenicios lo introdujeron en España, pero fueron los romanos y posteriormente los árabes los que perfeccionaron las técnicas de producción de aceite, y los que dieron una mayor difusión al cultivo en Andalucía, convirtiendo así a España en el primer país productor de aceite de oliva a nivel mundial (Rallo, 2005).

Botánica y morfología. El olivo cultivado (*Olea europea var. europaea*) pertenece a la familia de las oleáceas y procede del olivo silvestre o acebuche (*Olea europea var. sylvestris*) que se puede obtener fácilmente de ejemplares no cultivados nacidos a partir de aceitunas. El acebuche se diferencia de la especie cultivada por tener un porte más arbustivo, por la presencia de espinas en sus ramas y por sus hojas y frutos más pequeños. La planta cultivada se caracteriza por ser un árbol frondoso, de 15 metros de altura, con tronco de color gris claro, liso cuando es joven, y retorcido, grueso y lleno de nudosidades a medida que crece. Es un árbol de hoja perenne. Sus hojas son opuestas, coriáceas y lanceoladas y de un color verde plateado por el envés como consecuencia de la densa pubescencia que las cubre, signo de su adaptación a condiciones de estrés frente al frío del invierno y al calor del verano. Las hojas miden unos 8 cm de longitud por 2 cm de anchura y tienen una vida media de 3 años. Las flores son pequeñas y se reúnen en inflorescencias. Presentan cuatro pétalos de color blanquecino. El fruto del olivo es la aceituna, una drupa ovoide que aumenta su contenido en aceite a medida que madura. Su tamaño, forma y color depende de la variedad específica, aunque suele medir entre 1,5 y 3 cm. En España, la Gordal sevillana se considera la más grande y la Arbequina de Lérida, la más pequeña. El color del fruto es verde al principio, adquiere tonos violetas a medida que madura y termina por transformarse en una aceituna negra y más o menos rugosa (Rapoport, 2001).

Exigencias del cultivo. La singularidad del olivo reside en su carácter de cultivo permanente, su longevidad, su plasticidad y su gran adaptación a la climatología mediterránea. Su distribución queda delimitada por la isoterma -7°C como temperatura

media absoluta anual. Tiene escasos requerimientos climatológicos, sólo presenta problemas con las heladas en variedades muy tempranas, en las que el fruto se ve muy dañado, y de temperaturas elevadas durante la floración de forma que se produce el aborto ovárico generalizado, resintiéndose seriamente la producción. Es muy resistente a la sequía típica mediterránea y, aunque el óptimo de precipitaciones se sitúa entorno a los 650 mm bien repartidos, puede cultivarse en secano en aquellas zonas donde la pluviometría media anual no sea menor de 400 o 500 mm. Se desarrolla plenamente entre los 600-800 msnm, aunque en algunas regiones de España y Marruecos no es excepcional encontrarlo por encima de los 1.000 msnm. El olivo es un árbol que vegeta en una gran variedad de suelos, ocupando zonas incluso escarpadas con fuertes pendientes. Los suelos más adecuados son los francos - arcillosos, y necesita de un drenaje óptimo para asegurar su salubridad, debido a que es muy sensible al encharcamiento por asfixia de sus raíces. El olivo crece bien en suelos que van de moderadamente ácidos a moderadamente alcalinos (pH entre 5.5 y 8.5) y resiste mejor la salinidad que otros árboles frutales (Navarro y Parra, 2001).

1.1.2 El aceite de oliva y la salud

El aceite de oliva fue utilizado durante más de 4.000 años en las culturas Mediterráneas, no sólo para enriquecer y conservar los alimentos, sino también en diversas técnicas de masaje y cosmética (ungüentos), como combustible y aplicaciones médicas (Schäfer-Schuchardt, 1996). El aceite de oliva es el único aceite vegetal que se puede obtener simplemente prensando el material en crudo, las aceitunas, constituyendo un auténtico zumo de aceituna. Su calidad depende, supuestos el buen estado y madurez del fruto, del sistema de extracción, que puede incluir desde procedimientos mecánicos o físicos que no causan la alteración del aceite, hasta otros más complejos. Con el lavado, la decantación, la centrifugación y el filtrado se obtiene el aceite de mejor calidad, que se conoce como Aceite de Oliva Virgen Extra, cuya acidez libre expresada en ácido oleico es de un máximo de 0,8 g por 100 g (COI, <http://www.internationaloliveoil.org/>). Las más de 270 variedades de olivo cultivadas en España dan lugar tanto a aceites mono-varietales como a mezclas que permiten asociar las cualidades y sabores complementarios de los distintos cultivares (Mataix, 2001).

En la década de los 70, el nutricionista Ancel Keys (Keys, 1970) dio a conocer los beneficios de la dieta mediterránea para la salud y cuya base es el aceite de oliva. Una vez conseguida la consideración de alimento saludable gracias a la exitosa campaña alimentaria que resalta sus propiedades terapéuticas y nutritivas, el aceite

experimentó un rápido crecimiento de popularidad que se ha traducido en diversos trabajos científicos sobre sus efectos beneficiosos contra enfermedades cardiovasculares, cáncer, o daños oxidativos (Martínez de Victoria y Mañas, 2001). Recientemente, las bondades del “oro líquido” se han reforzado ya que su consumo frente a las grasas saturadas mejora significativamente el metabolismo de la glucosa, mejorando la resistencia a la insulina, relacionada con el síndrome metabólico (Pérez-Martínez et al., 2005). Además, un componente del aceite de oliva virgen, el octanal, actúa de forma similar al ibuprofeno, confiriendo ventajas a largo plazo a enfermedades como el Alzheimer (Beauchamp et al., 2005).

1.1.3 Localización geográfica

El área característica de la distribución del olivo es la ribera del Mediterráneo, comprendida entre los paralelos 30° y 45° de latitud Norte, que se caracteriza por tener inviernos suaves y veranos largos, cálidos y secos. El olivo constituye uno de los cultivos tradicionales más antiguos del litoral Europeo, estando siempre reducido a los países de la cuenca mediterránea como son España, Italia, Grecia, Portugal, Túnez, Turquía y Marruecos. Solamente estos siete países representan el 90% de la producción mundial, ocupando una superficie de 9,4 millones de has. El número total de olivos en el mundo se estima en aproximadamente 1.200 millones, de los cuales el 98% están en la cuenca mediterránea.

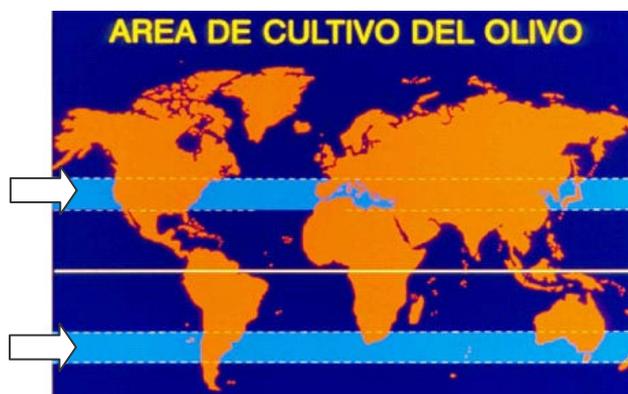


Figura 1. Distribución (en azul claro) del olivar en el mundo. Adaptado de: Olivicultura en el mundo y en España (Civantos, 2001) En: El Cultivo del Olivo

Sin embargo, la mayor demanda y valorización del aceite de oliva han suscitado en los últimos años el interés por el cultivo, de forma que se ha extendido a todas

aquellas zonas donde la climatología lo permite, encontrándose en regiones tan alejadas de su origen como los Estados Unidos o el hemisferio sur, en Australia, Chile, Perú, Argentina o Nueva Zelanda (Figura 1) (Segovia, 2003; UNCTAD, <http://www.unctad.org/>).

1.2 EL CULTIVO DEL OLIVO

1.2.1 Mercado mundial

Según datos del Consejo Oleícola Internacional (COI, 2005) y de la Consejería de Agricultura y Pesca (CAP, 2001a), los principales factores que afectan a los precios del aceite de oliva en España son: la producción nacional, el nivel de exportaciones nacionales, que a su vez dependerá de las producciones de otros países, el nivel de importación española y el consumo a nivel nacional y mundial.

El consumo medio mundial de aceite de oliva se sitúa en las 2.513.000 t, siendo el principal consumidor de aceite de oliva la UE (71%), destacando Italia a la cabeza, seguida de España y Grecia. En este panorama, EE.UU. representa ya un 7%.

Los principales países productores son también los principales países exportadores, representando la UE como media algo más del 61% de las exportaciones. España es el primer país productor y exportador mundial, con una producción media mundial en el periodo 1999-2005 de 2.739.300 millones de t. España exporta a más de 100 países de todos los continentes, aunque sus principales mercados varían dependiendo de si se exporta a granel, (dirigida principalmente a Italia, Francia, Portugal y Reino Unido) o envasado, cuyos destinos más frecuentes son EEUU, Australia y Japón. Aunque la cadena comercial española, en cuanto a aceite de oliva envasado se refiere, no se encuentra muy desarrollada, la situación está cambiando con la duplicación de las cifras en los últimos cinco años.

La importación media mundial se sitúa en torno a las 496.000 t. Los países importadores más importantes son los EE.UU. (36%) y la UE (26%). España importa aceite de oliva principalmente de Túnez y Turquía.

Según datos del COI (2005), en lo referente a las aceitunas de mesa, el mercado alcanza el millón de toneladas, destacando, como en el caso del aceite de oliva, la UE como principal productora con cerca de la mitad de la producción mundial, con España a la cabeza con el 26% de la producción. Como países exportadores destacan España y Grecia en la UE, así como Marruecos y Argentina. Los principales importadores mundiales son EEUU, y la UE (Italia, Francia y Alemania). En España, las principales zonas productoras de aceituna de mesa están en Andalucía (Sevilla, Málaga, Córdoba y Huelva) con el 75% de la producción, seguida de Extremadura con el 23%.

1.2.2 La olivicultura en España y en Andalucía

España es el primer país productor mundial con algo más de 300 millones de olivos repartidos en 2.423.841 ha. Su superficie cultivada representa más del 25% del total olivarero mundial (COI, 2005). El olivar cultivado se dedica fundamentalmente a la obtención de aceite y solamente el 10% se dirige a la producción de aceituna de mesa. Andalucía es la región oleícola por excelencia. El olivar andaluz supone algo más del 61% del total español y aproximadamente un 30% del conjunto de la UE. El resto del olivar español se reparte principalmente por Castilla-La Mancha, Extremadura y Cataluña (AAO <http://aao.mapa.es>) (Tabla 1).

Tabla 1. Distribución a nivel regional del olivar en España. Datos procedentes de la Agencia para el Aceite de Oliva referidos al año 2005 (AAO, <http://aao.mapa.es>).

Región	Superficie (ha)	Porcentaje	Nº olivos
Andalucía	1.480.162 ha	61,1	185.653.000
Extremadura	267.284 ha	11	36.676.000
Centro	332.463 ha	13,7	36.700.000
Ebro	178.803 ha	7,4	21.879.000
Levante	165.129 ha	6,8	26.850.000

Según datos de la Junta de Andalucía (RAEA, 2001; IEA, <http://www.juntadeandalucia.es>), en los últimos años la superficie de olivar destinado a la producción de aceite de oliva y aceituna de mesa en Andalucía ha aumentado en aproximadamente 195.000 ha, pasando de 1.288.888 ha en el año 1991 a 1.484.215 ha en el año 2004. La productividad del olivar también ha mejorado en los últimos años, debido principalmente al incremento de la superficie cultivable dedicada a este cultivo y a la incorporación en la olivicultura de las nuevas tecnologías. Jaén y Córdoba son las principales comarcas olivareras, concentrando el 61,8% de la superficie del olivar en Andalucía. Le siguen en importancia Sevilla, Granada y Málaga. Sin embargo, en producción de aceite de oliva, Granada se sitúa en tercer lugar. Las restantes provincias no llegan a alcanzar el 5% del olivar andaluz (Figura 2).

1.3 EL OLIVAR EN LA PROVINCIA DE GRANADA

1.3.1 Superficie y producción

Según las declaraciones de olivar de la campaña 2000/2001, facilitadas por el equipo de Sistema Integrado de Información Agraria (S.I.I.A) de la Empresa Pública para el Desarrollo Agrario y Pesquero de Andalucía (DAP), este árbol ocupa unas

175.000 ha, lo que significa que aproximadamente un 40,5% de la superficie cultivada de la provincia de Granada está dedicada a olivar.

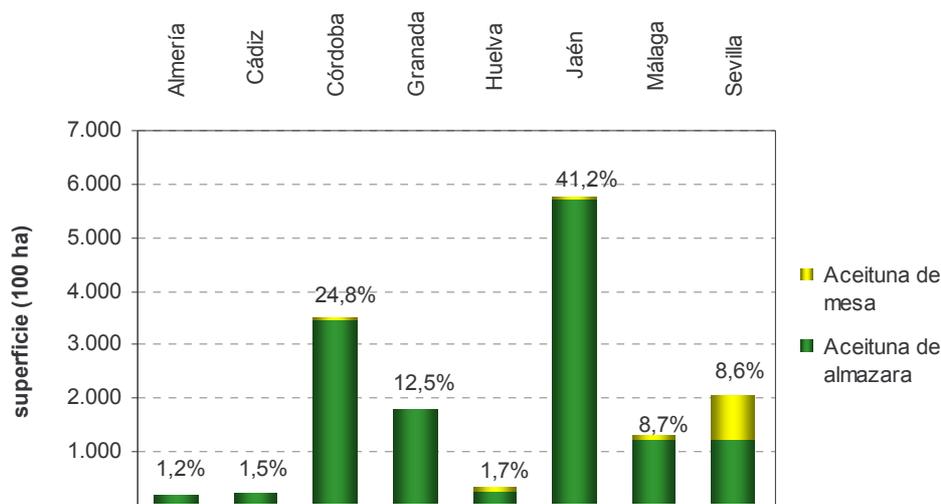


Figura 2. Superficie de olivar y % de aceituna de almazara por provincias en Andalucía en el periodo 2003-2004. Fuente de datos: (IEA, <http://www.juntadeandalucia.es>)

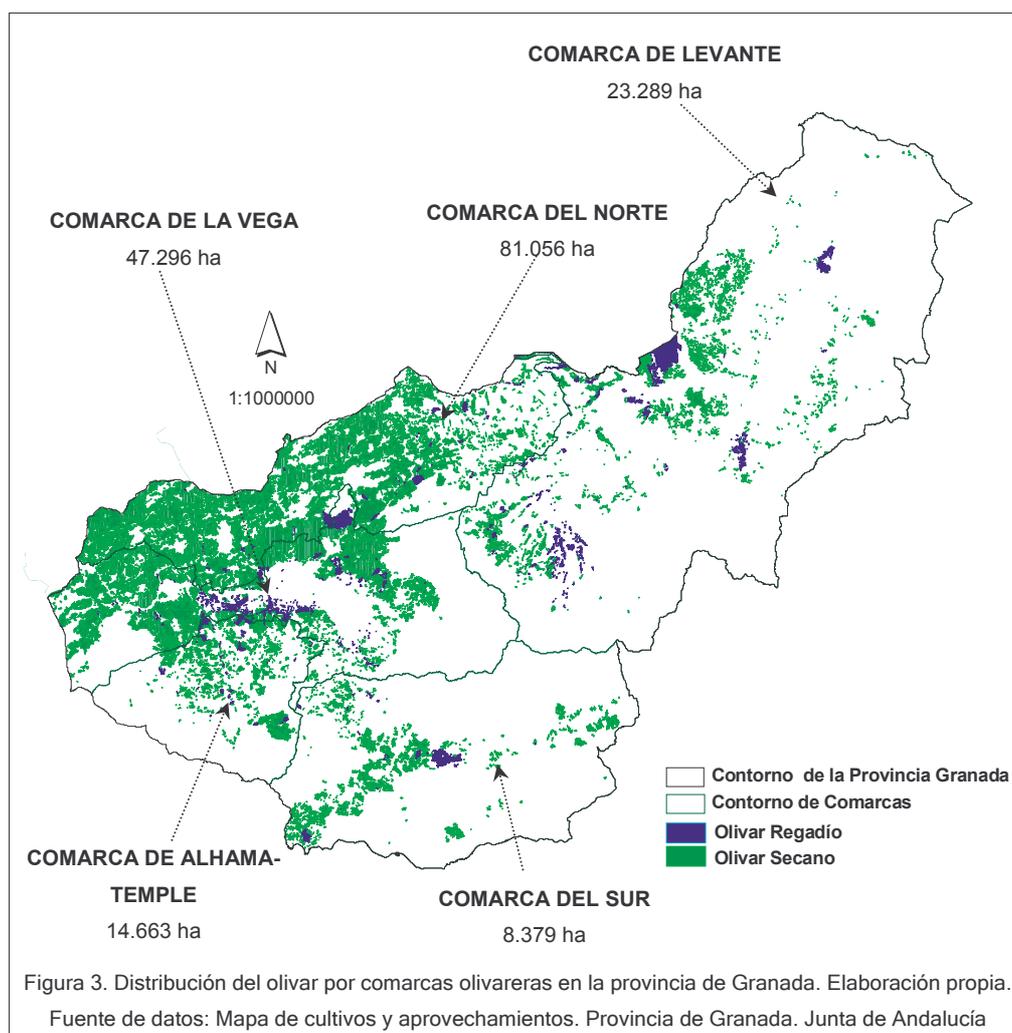
Granada es la tercera provincia de la comunidad autónoma en producción de aceite, con más de 62.000 t de media de aceite de oliva obtenida en sus 118 almazaras. En la campaña 2001-2002, la que supuso un récord en la historia olivarera andaluza y nacional, Granada produjo más de 104.000 t de aceite de oliva. Esto, en presupuesto de ayudas europeas en la aplicación de la reforma de la OCM del sector, supone que entre el periodo 2007/2013 Granada recibirá 80,7 millones de euros, detrás de Jaén (421,7 millones de euros) y Córdoba (183,5 millones de euros).

1.3.2 Distribución geográfica

La provincia de Granada se encuentra situada en el centro de la Cordillera Penibética. Limita al norte con las provincias de Jaén, Albacete y Murcia, al este con Almería, al sur con el mar Mediterráneo y Málaga, con la que limita también al oeste junto con Córdoba.

El olivar se reparte prácticamente por la totalidad de la provincia, aunque la mayor densidad se concentra en la zona noroccidental. Por el resto de la geografía se distribuye con más irregularidad, con presencia sólo testimonial en el extremo noreste y en municipios de la vertiente septentrional de Sierra Nevada (Figura 3). Este paisaje divide a la provincia de Granada en las cinco comarcas olivareras siguientes: La Vega,

Norte, Temple-Alhama, Levante y Sur (MAPA, 1976; 1996). Las comarcas del Norte y de la Vega son las más representativas de este cultivo, contabilizando ambas un 73% del olivar granadino. Le siguen Temple-Alhama, Levante y Sur. Esta división y distribución espacial del olivar en la provincia es el resultado de la larga y compleja evolución que ha sufrido el cultivo y en la que han influido tanto factores geográficos, climatológicos, históricos y culturales, como formas de apropiación y tenencia, además de la actividad empresarial y comercial del sector (Liceras, 1993).



1.3.3 Aspectos agronómicos

La información agronómica en la que se fundamenta este apartado ha sido facilitada por el Modelo de Explotaciones Olivareras de la Unidad de Prospectiva, y por el Inventario y Caracterización de los regadíos de Andalucía, ambos de la Consejería

de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía. Los mapas son de elaboración propia en base a dicha información.

1.3.3.1 Riego

El olivar granadino se ha cultivado tradicionalmente en secano. En los últimos años el cultivo ha seguido una dinámica de expansión superficial, pasando de 11.227 ha en 1983 a 174.683 ha en 2001, y es precisamente la superficie dedicada al regadío la que mayor aumento ha experimentado, triplicando casi su superficie, de forma que actualmente algo más del 23% está en regadío. Estudios realizados en el sector demuestran que la producción aumenta considerablemente con la práctica del riego (Martín Pérez et al., 2005; Pastor et al., 1999).

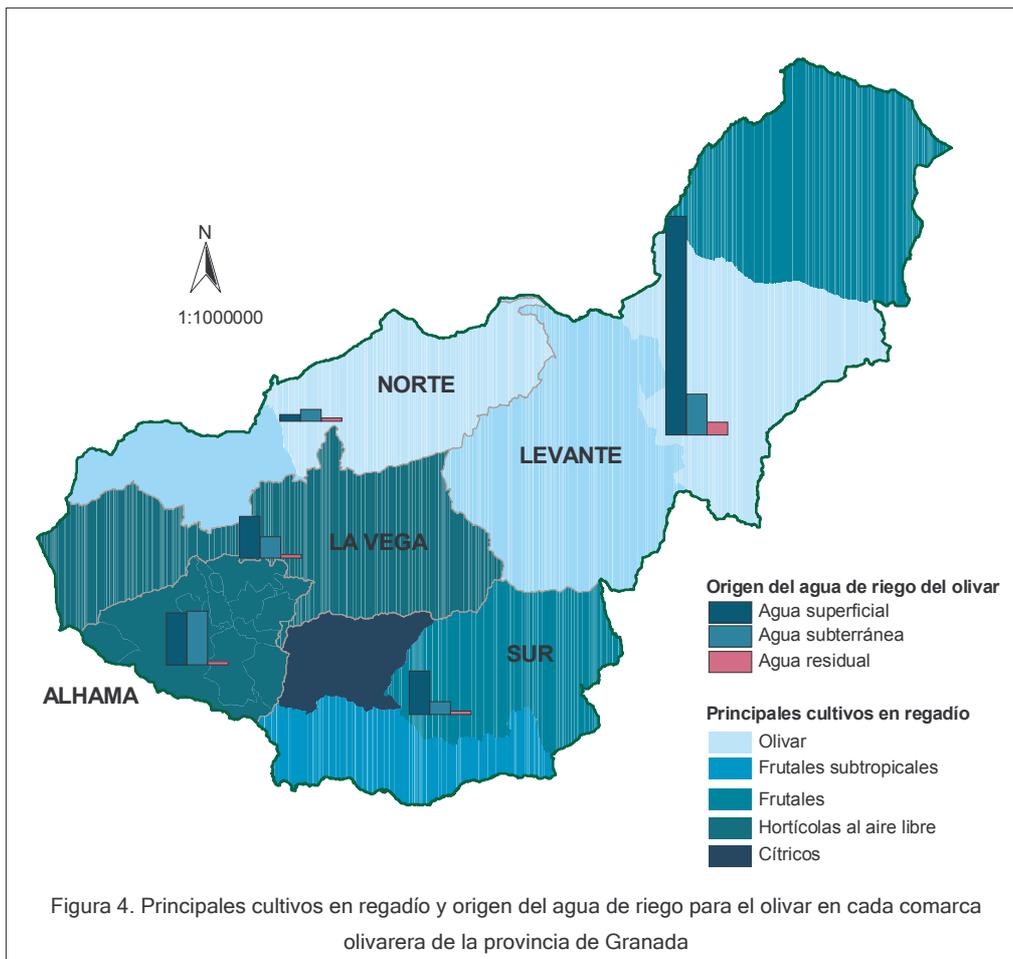
Aunque domina el riego por gravedad, las comarcas del Norte y de la Vega son las que están registrando mayores transformaciones en riego por goteo o localizado (CAP, 2002a; Martínez y Sánchez, 2004).

En superficie total, el olivar es ya el primer cultivo en regadío de la provincia de Granada con un total de 40.763 ha regadas. Ha superado a cultivos tradicionales, hortícolas al aire libre (25.921 ha), extensivos de verano (maíz, girasol, etc.) (12.884 ha), extensivos de invierno (12.481 ha), así como a otros cultivos arbóreos: frutales (13.913 ha), frutales subtropicales (8.181 ha) y cítricos (2.119 ha) (CAP, 2002a). Sin embargo, la importancia relativa de los diferentes cultivos en regadío varía según las zonas (Figura 4).

El agua de riego para el olivar es procedente mayoritariamente del agua superficial (66%), mientras que el agua subterránea suministra alrededor del 29% de las necesidades hídricas del regadío y menos del 1,5% del suministro procede de aguas reutilizadas (Figura 4). En la comarca del Norte, el riego se hace principalmente con aguas subterráneas, mientras que en la comarca de la Vega las aguas superficiales ganan importancia (CAP, 2002a; Martín Pérez et al., 2005).

1.3.3.2 Densidad de plantación

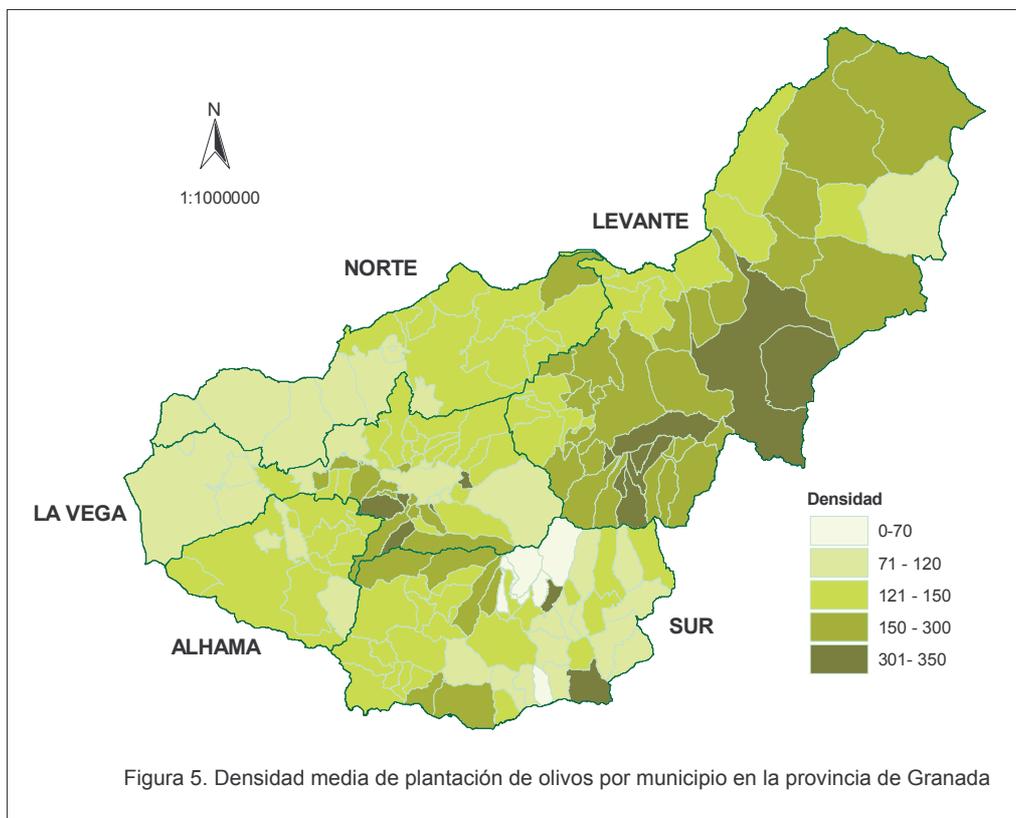
La densidad de plantación de una parcela oleícola se define como el número de olivos plantados por unidad de superficie y está asociada con la eficiencia de la ocupación del medio y con la facilidad para la mecanización de la explotación. En la provincia de Granada, el olivar con densidades de plantación entre los 70 y 150 olivos/ha es el que ocupa la mayor superficie en las regiones más tradicionales de cultivo del olivo (Figura 5). Por otro lado, en aquellos términos donde el olivar ha ido adquiriendo una importancia reciente, se siguen los criterios de la nueva olivicultura que propugna marcos de plantación más estrechos, entre los 150 y 300 olivos/ha.



1.3.3.3 Olivos de nueva plantación

Según los datos correspondientes a las declaraciones de cultivo del periodo 1998-1999, cedido por la Unidad Prospectiva, el número de olivos en la provincia de Granada es aproximadamente de 22,5 millones, de los cuales casi 18 de ellos son productivos y unos 4,5 de baja o nula producción, que en su mayor parte se corresponden con olivos de nueva plantación. Según la Consejería de Agricultura y Pesca (CAP, 2002b), el olivar de nueva plantación se define como “la relación de olivos nuevos respecto al total de olivos, considerando como olivos nuevos aquéllos plantados después del 1 de Noviembre de 1995”. Es una proporción y por lo tanto, su valor oscila entre 0 y 1, o se puede expresar en porcentaje. Respecto a la distribución media del olivar de nueva plantación, un 17% de los municipios se corresponde con olivar sin renovación (valor = 0), un 60 % tienen entre el 10-20% de su olivar en renovación, un 18% de los términos posee entre el 30-40% de su olivar en renovación y finalmente solo un 6% tiene más del 50% de olivar joven (Figura 6). El olivar nuevo se sitúa normalmente en municipios que han aumentado recientemente su superficie en

este cultivo y donde, como se ha mencionado, se sitúan las densidades de plantación mayores.



1.3.3.4 Variedades de olivo

En España se han inventariado 272 variedades de olivo cultivado de diversa importancia. Normalmente son variedades muy antiguas, autóctonas y con zonas de difusión restringidas en torno a sus posibles lugares de origen, a excepción de Picual, muy extendida debido a su uso en las nuevas plantaciones, dada su productividad y alto rendimiento graso. En este sentido cabe destacar la reciente introducción de la variedad de origen catalán denominada Arbequina (Rallo et al., 2005).

Las variedades predominantes en la provincia de Granada son Picual (con más de 120.000 ha) y Hojiblanca (con 28.000 ha) (Tabla 2). Sin embargo, en cada comarca la importancia relativa entre las tres variedades principales varía (Figura 7). En la comarca de la Vega, las más importantes son Picual, Hojiblanca y Loaime. En la comarca del Norte son Picual, Picudo y Hojiblanca; en la comarca de Alhama son Picual, Hojiblanca y Lucio; en la comarca del Levante son Picual, Cornicabra y Hojiblanca y finalmente, en la comarca del Sur la variedad principal es Lechín de

Granada, seguida de Picual y Hojiblanca. La variedad Picual es la más utilizada en olivares de nueva plantación.

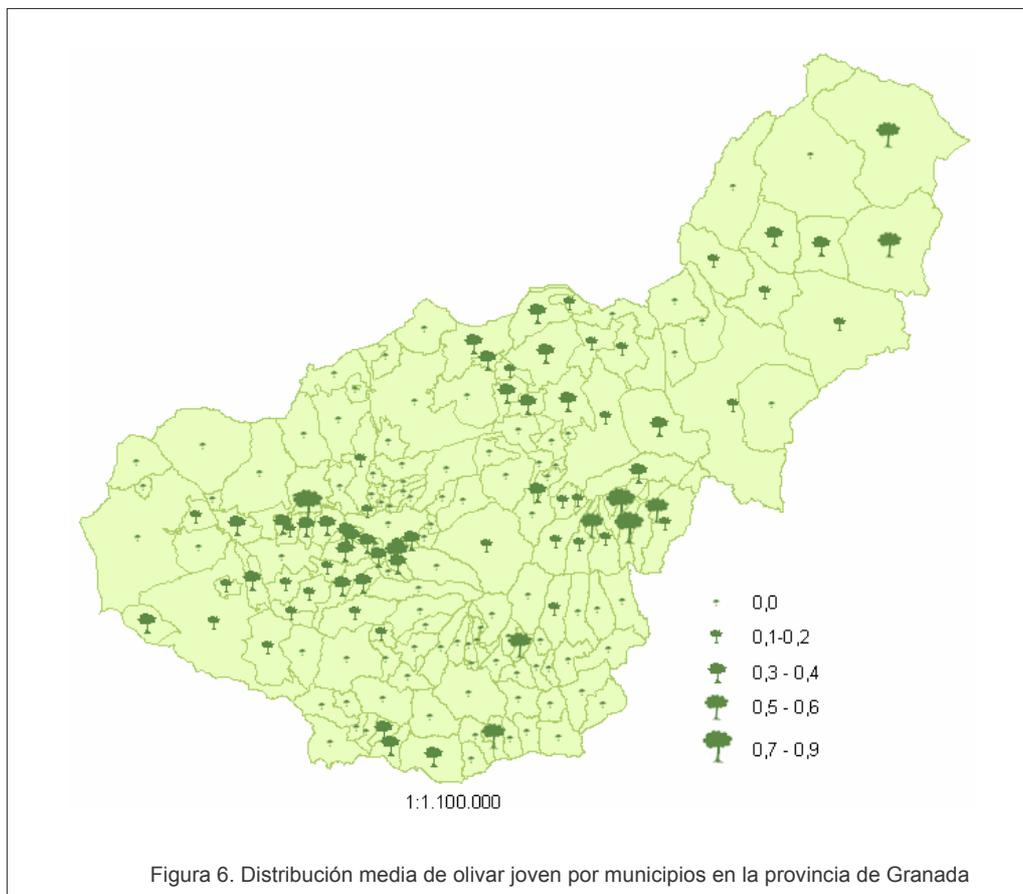
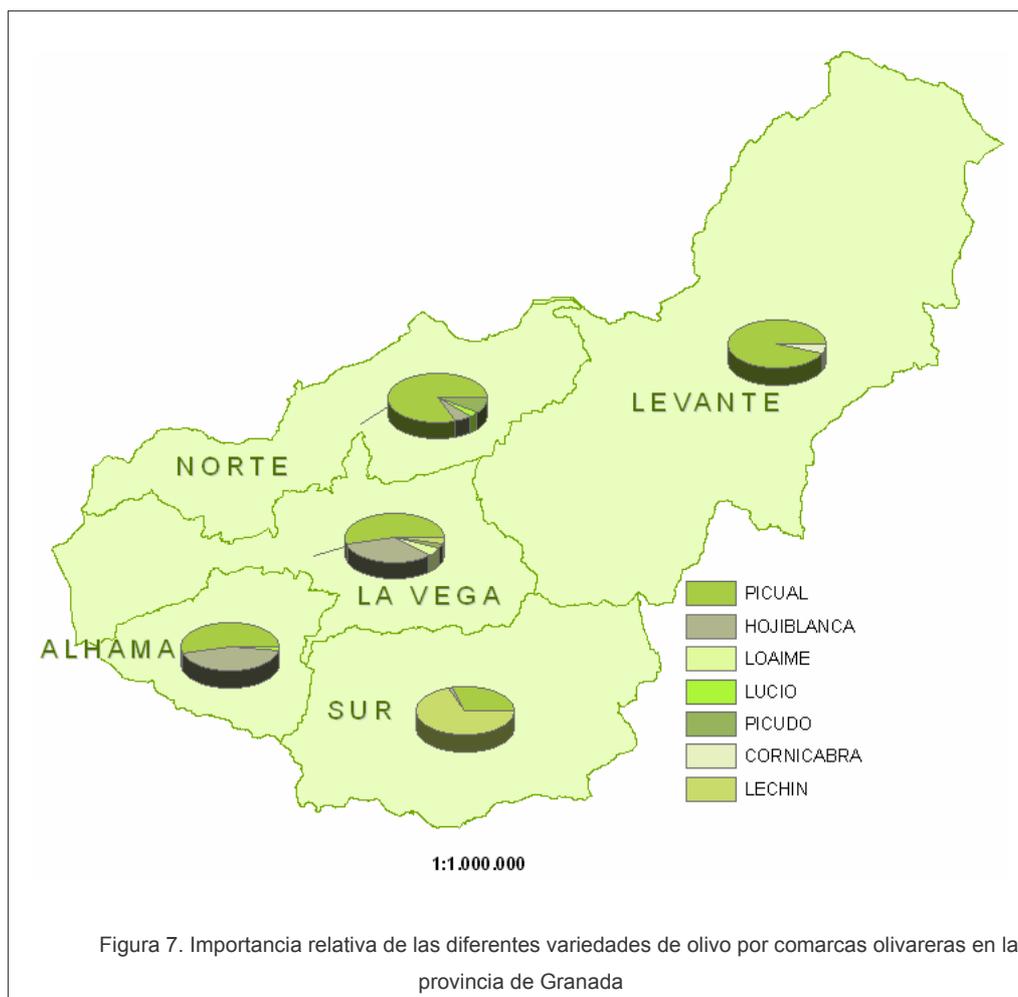


Tabla 2. Principales variedades utilizadas en olivar en la provincia de Granada. Fuente de datos: El olivar Andaluz (CAP, 2002b)

VARIEDAD			
Picual	90.085 ha	65%	adulto
	32.476 ha	76,7%	en renovación
Hojiblanca	23.914 ha	17,8%	adulto
	4.109 ha	9,7%	en renovación
Picudo	4.851 ha	3,6%	adulto
	563 ha	1,3%	en renovación
Otras variedades	15.694 ha	11,7%	adulto
	5.206 ha	12,3%	en renovación



1.3.4 Comarcas olivareras granadinas

1.3.4.1 Comarca del Norte

Localización e información agroambiental. Es la comarca más productiva y comprende la parte central y occidental de la provincia, incluyendo las zonas de Iznalloz y Montefrío, denominadas ambas Montes Orientales y Occidentales y separadas geográficamente por el río Cubillas.

La comarca limita en el extremo oriental con el valle del río Fardes, donde comienza la orografía típica del paisaje xérico del sudeste español. Se sitúa a una altitud media de 991 msnm con una pendiente media del 8% pero que varía de ligera a fuertes inclinaciones. El paisaje del olivar se sitúa sobre colinas sedimentarias con predominio de media montaña y de valles orientados al sureste que se ubican sobre una amplia gama de materiales. La topografía en la parte oriental es más suave pero

de mayor altitud media que la occidental, lo que determina cierta tendencia a formar un altiplano. El clima en el oeste es más suave en el invierno y cálido en verano que en el este, haciendo que esta zona sea netamente olivarera, mientras que la parte oriental debido a su más alta continentalidad climática tiene mayor tradición cerealista.

El clima es continental, con acusados matices mediterráneos. La temperatura media anual ronda los 13,8°C con una media de mínimas de 0,4°C y una media de máximas de 33,4°C. La precipitación incrementa conforme se asciende, pasando de los escasos 400 mm en laderas próximas al Genil a sobrepasar los 600 mm en las zonas limítrofes con las provincias de Jaén y Córdoba, o en la sierra de Iznalloz. Existe gran diferencia pluviométrica entre la parte oriental y la occidental, ya que la primera no sobrepasa de los 400 mm y la segunda recibe precipitaciones de hasta 800 mm. Las precipitación media anual se sitúa en los 552 mm (Guzmán, 2004; Martínez y Sánchez, 2004; SIGA, <http://www.mapa.es>).

Características del olivar. Esta comarca comprende un total de 18 municipios, con una superficie total de olivar de 81.000 ha (Tabla 3), de las cuales el 90% se sitúa en régimen de secano y solo en algunas plantaciones se ha implantado el sistema de riego por goteo, que se aplica de marzo a septiembre según la pluviometría. Montefrío, Iznalloz, Illora, Moclín y Algarinejo se encuentran entre los municipios con mayor superficie de cultivo. La densidad de plantación característica de esta comarca es la típica del olivar tradicional u olivar extensivo de 70-120 olivos/ha (Figura 8). Se ha producido un incremento de la superficie de olivar desde los años 80 en todos los municipios, destacando especialmente, Montefrío, Iznalloz, Illora, Guadahortuna y Píñar y, en general, hay un aumento a expensas del regadío. Los que presentan mayor superficie de olivar regado son Illora, Deifontes, Iznalloz y Guadahortuna (Tabla 3).



Figura 8. Paisaje típico del olivar en la comarca del Norte de la provincia de Granada

Tabla 3. Distribución y evolución de la superficie de olivar en ha por municipios en la comarca del Norte de la provincia de Granada

MUNICIPIOS	1983		2001	
	Superficie de olivar (ha)		Superficie de olivar (ha)	
	Secano	Regadío	Secano	Regadío
Montefrío	7.000	-	15.668	148
Iznalloz	5.817	139	10.398	1.240
Illora	5.240	37	8.953	1.880
Moclín	5.141	56	6.556	121
Algarinejo	5.059	-	6.197	28
Colomera	3.543	40	4.905	611
Piñar	1.520	3	3.030	617
Montillana	1.690	-	3.358	58
Montejícar	1.445	-	3.329	71
Guadahortuna	436	-	2.165	1.167
Deifontes	2.336	-	1.270	1.538
Campotéjar	1.335	-	2.284	145
B. de las Villas	772	-	1.591	2
Pedro Martínez	562	-	1.100	294
Alamedilla	215	25	721	456
Morelabor	16	-	570	2
Gobernador	50	-	281	49
Torre Cardela	5	-	241	10

Fuente de datos: Licerias (1993), Unidad Prospectiva (2001)

Esta zona es de gran tradición olivarera y el único factor limitante para el cultivo del olivo se encuentra hacia el este y es de tipo climático, por efectos de la continentalidad.

Usos del Suelo. El cultivo mayoritario es el olivo tanto en secano como en regadío (Figura 8). La superficie agrícola no olivarera en la zona más occidental de la comarca mantiene los tradicionales cultivos herbáceos, principalmente de secano, como cebada, trigo y avena, aunque en los últimos años se ha producido un notable retroceso de éstos. Como cultivo herbáceo en regadío, además de cereales, destacan las cebollas, ajos, y algo menos de girasol, alfalfa y judía verde (SIMA, <http://www.juntadeandalucia.es/iea/>).

1.3.4.2 Comarca de La Vega

Localización e información agroambiental. Se corresponde con el área central de la provincia, comprendiendo parte de La Vega del río Genil de Granada y la zona de

Loja. El olivar es de escasa pendiente con relieve llano a alomado (9%). Se sitúa en lomas y llanuras sobre depósitos aluviales o sobre colinas sedimentarias en el caso de Loja.

Su clima es templado-medio, influido por la existencia de un gran valle (Vega del río Genil) encajado entre dos sistemas montañosos, sistemas Subbético al norte y Penibético al sur. Posee un microclima con un régimen térmico continental con grandes oscilaciones entre el invierno y el verano, y unas diferencias grandes de temperatura entre la noche y el día, con una media de 14°C, resultante de máximas de 32°C y mínimas cercanas a 0°C. La precipitación media es de 494 mm, pero en la mayor parte de la Vega puede no llegar a los 400 mm (SIGA, <http://www.mapa.es>).

Características del olivar. Con más de 47.000 ha, de las que un 79% es de secano, es la segunda comarca en superficie de olivar detrás de la comarca del Norte. La densidad del olivar mayoritaria se mantiene entre los 70-120 olivos/ha aunque comienzan a ganar importancia las plantaciones de marcos más estrechos. Se compone de un total de 46 municipios, entre los que cabe citar por orden de importancia: Loja (14.301 ha), a mayor distancia Salar (5.609 ha), Pinos Puente (4.160 ha) y Albolote (3.567 ha) (Tabla 4). Dominan las parcelas homogéneas, tanto de secano como de regadío, donde el riego lo hacen principalmente por inundación, aunque la tendencia actual es la transformación en riego localizado (Figura 9) (Martínez y Sánchez, 2004). En la comarca de la Vega, a excepción de los principales municipios olivareros (Loja, Salar y Pinos Puente), no existen grandes diferencias entre las has dedicadas a secano o regadío (Tabla 4). Desde los años 80 se ha producido un incremento de la superficie de olivar, especialmente en los municipios mayoritarios de Loja, Salar y Pinos Puente, así como en el término de Cijuela (Tabla 4).



Figura 9. Paisaje típico del olivar en la comarca de la Vega de la provincia de Granada

Tabla 4. Distribución y evolución de la superficie de olivar en ha por municipios en la comarca de la Vega en la provincia de Granada

MUNICIPIOS	1983		2001	
	Superficie de olivar (ha)		Superficie de olivar (ha)	
	Secano	Regadío	Secano	Regadío
<i>Loja</i>	10.506	52	13.703	597
<i>Salar</i>	4.340	15	5.299	310
<i>Pinos Puente</i>	2.600	4	3.168	992
<i>Albolote</i>	2.461	96	2.029	1.538
<i>Cogollos Vega</i>	1.412	200	1.620	290
<i>Moraleda</i>	980	-	1.043	662
<i>Atarfe</i>	732	66	1.132	525
<i>Granada</i>	1.110	171	516	808
<i>Huétor Tájar</i>	740	-	969	276
<i>Cijuela</i>	-	-	431	615
<i>Las Gabias</i>	750	71	751	267
<i>Calicasas</i>	748	74	797	93
<i>Santa Fe</i>	407	82	212	674
<i>Güevejar</i>	610	29	627	218
<i>Zagra</i>	-	-	825	1
<i>Chauchina</i>	303	23	401	282
<i>Alhendín</i>	44	250	498	163
<i>Resto de municipios</i>	-	-	494	41

Fuente de datos: Liceras (1993), Unidad Prospectiva (2001)

Los factores limitantes del cultivo en esta comarca son escasos, si acaso la incidencia de la sequía estival o factores agronómicos como encharcamiento por el alto contenido en arcilla de los suelos. Sin embargo, las limitaciones pueden ser soslayadas por prácticas agronómicas adecuadas. Tal vez el factor más importante sea la competencia del cultivo en algunas zonas con los cultivos herbáceos en regadío y las hortalizas (Guzmán, 2004).

Usos del suelo. El principal recurso agrícola en cultivos leñosos en la comarca de la Vega lo constituye el olivo, tanto en secano como en regadío. Gracias al agua procedente de las sierras de la provincia, especialmente de Sierra Nevada, esta comarca ha sido la zona tradicional de regadío, destacando por orden los cultivos herbáceos de maíz, hortalizas, espárrago, tabaco y alfalfa, en regadío y los cereales en secano (Figura 9) (SIMA, <http://www.juntadeandalucia.es/iea/>).

1.3.4.3 Comarca Alhama-Temple

Localización e información agroambiental. Esta comarca se localiza en el suroeste de la provincia. Constituye una amplia hoya, de orografía irregular, que intercala llanuras y montes, dibujada por sus límites naturales con la Vega de Granada y los sistemas montañosos calizos de las sierras de Alhama, Tejeda y Gorda. La altitud media de la comarca es de 965 msnm y presenta un relieve colinado con pendientes del 15-30% y media del 7,5%. La temperatura media anual varía entre los 6,6° y los 23,7°C. La temperatura media de máximas del mes más calido es de 33,1°C y la del mes más frío es de 6°C. La pluviometría media es de 418 mm, localizándose la zona más seca en la ribera del Cacín, donde los valores no llegan a la media. El periodo seco en esta comarca es de cuatro meses (SIGA, <http://www.mapa.es>).

Características del olivar. Este cultivo suele encontrarse sobre colinas sedimentarias en numerosas parcelas dispersas entre los campos de cereales. Ocupa un 21% de la superficie total cultivada con algo más de 14.500 ha, donde el 22% es de olivar en regadío, mayoritariamente por goteo. La densidad de plantación más frecuente es la de 70-120 olivos/ha (Figura 10). Los factores que limitan la extensión del cultivo son la continentalidad climática y la erosión debida a la pendiente acentuada y a los materiales inestables (Martínez y Sánchez, 2004).



Figura 10. Paisaje típico del olivar en la comarca de Alhama de la provincia de Granada

La comarca se compone de un total de 11 municipios, siendo Alhama de Granada, Arenas del Rey y Jayena los más representativos del cultivo (Tabla 5). El incremento de la superficie de olivar desde los años 80 se ha producido en gran parte a expensas del regadío que en total ha pasado de 92 ha en el año 1983 a 3.230 ha en 2001 (Tabla 5). Los municipios que mayor crecimiento han experimentado son Cacín,

con un total de 17.572 olivos de nueva plantación, seguido de Chimeneas y Alhama de Granada.

Tabla 5. Distribución y evolución de la superficie de olivar en ha por municipios en la comarca del Alhama-Temple en la provincia de Granada

MUNICIPIOS	1983		2001	
	Superficie de olivar (ha) Secano	Regadío	Superficie de olivar (ha) Secano	Regadío
<i>Agrón</i>	100	-	348	10
<i>Alhama</i>	2.800	-	5.128	1.058
<i>Arenas del Rey</i>	996	-	1.488	427
<i>Cacín</i>	200	10	701	190
<i>Chimeneas</i>	947	2	2.720	505
<i>Escúzar</i>	642	33	878	328
<i>Jayena</i>	1.774	17	1.730	377
<i>La Malaha</i>	92	8	422	78
<i>Sta. Cruz</i>	439	-	470	12
<i>Ventas Huelma</i>	532	20	766	242
<i>Zafarraya</i>	16	-	14	3

Fuente de datos: Licerias (1993), Unidad Prospectiva (2001)

Usos del suelo. Esta comarca se ha caracterizado tradicionalmente como una gran zona cerealista, salpicada por una profusa red fluvial, con predominio del secano que ha ido perdiendo terreno a favor de cultivos más rentables como el almendro o el olivar. La superficie cultivada se reparte entre los cultivos herbáceos en secano, el olivar y otros cultivos de secano (almendro principalmente) y las superficies de vegas irrigadas, de orientación hortícola. El principal cultivo leñoso en regadío es el olivar y en secano el almendro. Los cultivos herbáceos en regadío son más diversos, destacando el tomate, la cebolla y la judía verde, seguidos del cereal, principalmente la cebada, además de la alfalfa y la avena y, en menor proporción, el girasol. En cuanto al cultivo herbáceo de secano predomina el cereal, principalmente la cebada, y algo menos el cultivo de leguminosas como la veza para forraje (Figura 10) (SIMA, <http://www.juntadeandalucia.es/iea/>).

1.3.4.4 Comarca del Sur

Localización e información agroambiental. Situada al sur de la provincia, abarca a su vez tres subunidades bien diferenciadas, como son la comarca del Valle de Lecrín, de la Costa y de la Alpujarra. Es sin duda la zona geográficamente más accidentada de la provincia. Su altitud media es de 1.067 msnm con una amplitud que va desde los

100 msnm (en la Costa hasta 50 msnm) a más de 3.000 msnm en las cumbres de Sierra Nevada, que tiene la mayor altitud de la Península Ibérica. Esta es la razón por la que en pocos kilómetros varíe tanto la climatología y, como consecuencia, la vegetación natural y los cultivos, mezclándose los paisajes.

La pendiente natural se sitúa por encima del 22%, y las plantaciones continuas de olivar se localizan fundamentalmente sobre laderas de colinas de moderada a gran pendiente (15 a 45%) y las tierras agrarias suelen ocupar bancales y terrazas.

La temperatura media anual es de 14,2°C, mientras que la temperatura media de mínimas del mes más frío es de 3,1°C y de máximas de 29,4°C. Lógicamente, estos valores varían dependiendo de la subunidad, registrando las Alpujarra los valores más bajos y la costa los más cálidos, mientras que el valle se sitúa en una zona térmica intermedia. La pluviometría media anual ronda los 564 mm, registrándose la más escasa con 452 mm de media anual en todo el fondo del valle.

El Valle de Lecrín es la unidad comarcal más pequeña y constituye un resguardo orográfico entre las altas cumbres de Sierra Nevada y la Sierra de Albuñuelas, gozando de un auténtico microclima, que unido a su cercanía al mar forma un vergel con un clima especial que conjuga rasgos mediterráneos y continentales. La comarca de las Alpujarra se extiende a lo largo de un inmenso valle longitudinal al que se abren numerosos barrancos y cárcavas. Es una región montañosa y abrupta, delimitada por el Valle de Lecrín al oeste, el mar Mediterráneo al sur y las altas cumbres de Sierra Nevada al norte. Se caracteriza por las duras condiciones climáticas, suelos raquíuticos, duros relieves y empinadas cuestas. Su ubicación meridional ha permitido que las terrazas se hayan extendido hasta cotas muy altas. A lo largo de sus 60 Km de superficie, la comarca de la costa es una zona escarpada y su clima esta regido por la influencia marítima (SIGA, <http://www.mapa.es>; Guzmán, 2004).

Características del olivar. En esta comarca los olivos se encuentran en las vegas constituyendo un cultivo continuo, o se extienden sobre las colinas y vaguadas y en los bancales creados para dominar las pendientes de las laderas. En este último caso, la mayor parte del cultivo esta constituido por árboles maduros formando los bordes de los bancales a modo de secano, mientras que el centro de las terrazas se dedica al regadío con otros cultivos (Figura 11).

El valle es la subunidad que presenta una mayor superficie de cultivo de olivo (3.500 ha), seguido de la Alpujarra con 3.200 ha y por último se sitúa la subunidad de la Costa con 1.600 ha. Como se ha dicho con anterioridad, buena parte de sus olivos se estructuran en bancales y son de regadío, representando este último un 53%. La densidad de plantación más frecuente suele ser alta, y está comprendida entre los 150-

300 olivos/ha. Esta gran comarca engloba un total de 50 municipios y los principales términos en el cultivo del olivo son Albuñuelas, Órgiva y Los Guájares (Tabla 6).



Figura 11. Paisaje típico de la comarca del Sur en la provincia de Granada.

Los factores que limitan la expansión del cultivo son la pendiente y el riesgo de erosión, así como la litología (delgadez y escasa retención de agua). El olivo ha sido desplazado por la competencia con los cítricos en las zonas del Valle de Lecrín, o por los cultivos tropicales en la Costa (Guzmán, 2004).

Usos del suelo. Cada una de las subunidades ha adoptado históricamente una modalidad de policultivo mediterráneo, siendo característico el cultivo mixto olivar - cítricos que ocupa el fondo del Valle y se prolonga hasta los municipios alpujarreños. En el Valle de Lecrín, los principales recursos agrícolas lo constituyen el almendro y el olivo en secano, y los agríos en regadío, lo que genera un paisaje de contrastes y colores. Los principales cultivos herbáceos en regadío son forraje, maíz, patata y cereal. En el regadío de la Alpujarra domina el policultivo de olivos entre naranjos y limoneros, membrillos y granados. En los secanos, el olivo aparece junto a los almendrales mezclados con viñedos, cereales, habas u hortalizas. En la subunidad de la Costa, la bondad climática ha permitido que tradicionalmente haya sido refugio de cultivos exigentes térmicamente, como los cítricos y caña de azúcar, o más recientemente, los cultivos subtropicales y hortícolas de invernadero, de manera que los olivares han ocupado históricamente un lugar secundario (SIMA, <http://www.juntadeandalucia.es/iea/>).

Tabla 6. Distribución y evolución de la superficie de olivar en ha por municipios en la comarca del Sur en la provincia de Granada

MUNICIPIOS	1983		2001	
	Superficie de olivar (ha)		Superficie de olivar (ha)	
	Secano	Regadío	Secano	Regadío
<i>Albuñuelas</i>	500	140	1.066	877
<i>Los Guájares</i>	330	196	607	422
<i>Padul</i>	577	6	522	420
<i>Cadíar</i>	81	139	309	200
<i>Almuñecar</i>	250	-	203	187
<i>Ugíjar</i>	101	526	452	162
<i>Vélez de Benaudalla</i>	246	-	183	135
<i>Almegíjar</i>	330	-	336	131
<i>Otívar</i>	387	-	133	125
<i>El Pinar</i>	-	-	488	123
<i>Torvizcón</i>	100	-	130	105
<i>Orgiva</i>	682	356	788	101
<i>Itrabo</i>	395	-	109	101
<i>Jete</i>	10	-	100	93
<i>Lentejil</i>	117	4	100	92
<i>Dúrcal</i>	264	285	307	89
<i>El Valle</i>	1	122	400	84
<i>Motril</i>	-	-	83	76
<i>Lobras</i>	160	-	92	67
<i>Villamena</i>	211	12	141	61
<i>Turon</i>	62	-	63	60
<i>Alpujarra de la Sierra</i>	13	39	83	34
<i>Lecrín</i>	147	158	481	34
<i>Murtas</i>	72	15	42	20
<i>Lanjarón</i>	105	870	550	17
<i>Gualchos</i>	-	-	42	16
<i>Nevada</i>	425	13	184	11
<i>Resto de municipios</i>	683	641	385	62

Fuente de datos: Liceras (1993), Unidad Prospectiva (2001)

1.3.4.5 Comarca del Levante

Localización e información agroambiental. Esta comarca abarca un amplio espacio geográfico provincial, en el que podemos distinguir al menos tres zonas que ganan en altura de norte a sur: la depresión u hoya de Guadix, que constituye una zona de transición, la comarca de Huéscar y el altiplano de Baza. La lejanía del mar, el cierre

montañoso y lo oriental de su situación hacen de esta comarca una de las más secas de España, sometiéndola a un clima casi subdesértico. Cuenta por lo tanto con unas evidentes limitaciones climáticas y edafológicas para el desarrollo del cultivo del olivo.



Figura 12. Paisaje típico de la comarca de Levante en la provincia de Granada

La comarca tiene una altitud media de 1.118 msnm, con temperatura media anual de 12,8°C, con una media de mínimas de -0,1°C y una media de máximas de 31,9°C. La forma predominante de paisaje son las lomas suaves y vegas (del 0 al 30%), que pueden adoptar el perfil de colinas (15 a 30%) e incluso cerros en algunas localidades. La pendiente es en general llana o moderadamente inclinada, con una media del 8,4% (SIGA, <http://www.mapa.es>).

Características del olivar. Al observar la distribución espacial del olivar en esta comarca se detecta una afinidad patente de este cultivo con el sector oriental en los términos municipales de Cuevas del Campo, Zújar, Cortes de Baza y Castril, el más próximo a la provincia de Jaén, influenciados por la variable histórica de cercanía a esta provincia y por estar ligado su cultivo al aprovechamiento de las aguas que descienden de la vertiente meridional de la Sierra de Cazorla. A la limitación del clima se une la erosividad que se produce a causa de los materiales del substrato, por lo que las laderas no son sitios frecuentes del olivar debido al abarrancamiento del terreno (Guzmán, 2004).

Al igual que en la comarca del Sur, esta unidad se integra por una gran cantidad de municipios (un total de 42) y en la mayoría de ellos el olivar no es el cultivo prioritario. En total se contabilizan casi 23.300 ha. Los municipios con mayor superficie de olivar son Cuevas del Campo, Cortes de Baza, Castril y Zújar, entre otros (Tabla 7). El ambiente semiárido obliga a que estos olivares hayan de ser mayoritariamente apoyados con agua, por lo que el olivar en regadío alcanza el 64% del total. La

densidad de plantación más característica es la típica de los olivares intensivos o semi-intensivos de 150-300 olivos/ha. La erosión, la topografía y el régimen hídrico actúan como factores limitantes para el olivar (Figura 12).

Tabla 7. Distribución y evolución de la superficie de olivar en ha por municipios en la comarca del Levante en la provincia de Granada.

MUNICIPIOS	1983		2001	
	(Superficie de olivar (ha))		(Superficie de olivar (ha))	
	Secano	Regadío	Secano	Regadío
<i>Cuevas del Campo</i>	-	-	2.428	139
<i>Baza</i>	814	2.173	1.948	202
<i>Guadix</i>	423	103	1.970	367
<i>Dehesas de Guadix</i>	162	428	868	49
<i>Caniles</i>	80	480	932	125
<i>Zújar</i>	1.242	1.217	1.231	462
<i>Huescar</i>	360	451	835	111
<i>Cullar</i>	461	810	831	246
<i>Benamaurel</i>	105	452	806	243
<i>Freila</i>	20	337	664	170
<i>Alicún de Ortega</i>	149	-	380	8
<i>Cortes y Graena</i>	70	65	371	36
<i>Castril</i>	1.222	9	2.404	2.095
<i>Fonelas</i>	26	30	442	161
<i>Vllnva. de las Torres</i>	21	13	377	114
<i>Diezma</i>	250	-	491	240
<i>Cortes de Baza</i>	911	10	2.193	1.976
<i>Gorafe</i>	25	110	308	91
<i>Cogollos de Guadix</i>	128	24	248	50
<i>Resto de municipios</i>	312	1.177	3.561	1.628

Fuente de datos: Licerias (1993), Unidad Prospectiva (2001)

Usos del suelo. En secano predominan las plantaciones de almendro y los cereales, especialmente la cebada y algo menos de trigo y cereal para forraje. En el regadío los principales cultivos son el olivo y la cebada (SIMA, <http://www.juntadeandalucia.es/iea/>).

1.4 EVOLUCIÓN DEL CULTIVO DEL OLIVO

1.4.1 Antecedentes

Hacia la mitad del siglo XX, a partir de los años 60, se produce un enorme proceso de industrialización con grandes cambios demográficos migratorios hacia las zonas industriales, desencadenados por la liberalización e industrialización de la economía española. Este abandono del campo favoreció la emergencia y expansión de otras grasas vegetales más baratas que el aceite de oliva, como la colza, el girasol y la soja. A finales de los años 80, el aceite de oliva tenía problemas derivados de la competencia, o el alto coste de producción, debido a gastos tales como mano de obra, maquinaria, carburante, fertilizantes, etc. También presentaba problemas relacionados con la estructura del olivar, el material vegetal, las técnicas culturales, la transformación y las graves deficiencias en la comercialización del producto. Según datos del Ministerio de Agricultura y Pesca, en su inventario agronómico del olivar de 1984, el 95% del olivar era de secano y sólo un 5% de regadío, el 44% del olivar andaluz tenía más de 100 años y el 76% presentaba densidades inferiores a 100 árboles/ha.

El I Plan de Reestructuración y Reconversión Productiva del Olivar (1972-1986) (Decreto 1.010/72), la incorporación de España a la UE en 1986 y la progresiva aplicación de las medidas de la OCM del aceite de oliva, fueron los acontecimientos que más influyeron en el fin de esta crisis. Se produjo una intensa renovación tecnológica del cultivo, estableciéndose las bases científicas y técnicas de lo que se ha venido denominando NUEVA OLIVICULTURA que transformaría el cultivo en un olivar moderno, intensivo y rentable, cuya plena aceptación social y económica permanece hasta nuestros días (Pastor, 1986).

1.4.2 Concepto de la nueva olivicultura

Este nuevo modelo persigue la obtención de la máxima producción que permita el medio (agua, suelo y luz), y la reducción al máximo de los costes de cultivo y en especial de la recolección, con una mayor preocupación por las técnicas de cultivo y elaboración que garantice una mejor calidad del aceite. Este proceso de cambio tecnológico afecta por lo tanto al laboreo, fertilización, control de plagas, enfermedades y malas hierbas, riego, poda y recolección. El aumento de la rentabilidad mediante el aporte dirigido de agua ha hecho del regadío una de las técnicas más empleadas en la nueva olivicultura.

En lo referente al establecimiento de las nuevas plantaciones, tres son los elementos principales que han variado respecto al cultivo tradicional del olivar y son (Pastor, 1986):

- Reducción del número de variedades. Se persigue la precocidad en la entrada en producción. Para ello es importante la utilización en la plantación de variedades altamente productivas, precoces, y con aceites de alta calidad. Las variedades recomendadas para almazara en Andalucía fueron Picual, Arbequina y Hojiblanca.
- Sistema de propagación. Se recomienda la utilización de material vegetal de calidad, procedente de autoenraizamiento de estaquillas semi-leñosas criadas en contenedores de plástico de pequeña capacidad, aconsejándose abandonar el método tradicional de multiplicación a partir de estacas de madera gruesa.
- Se impone un diseño del olivar mecanizable, con olivos de un solo tronco y densidades altas de plantación, entre 250-300 plantas por ha con una calle ancha de 7-8 metros (Pastor et al., 2006).

1.4.3 Agricultura sostenible

La Nueva Olivicultura se puede definir como una agricultura productivista que, indudablemente, ha reportado grandes beneficios. Sin embargo, también ha provocado serios perjuicios ecológicos en el olivar. Actualmente existe una demanda generalizada por parte de la sociedad de una agricultura mejor en cuanto a la salubridad y calidad alimentaria se refiere, así como de la preservación del medio ambiente. Como resultado, aparece un nuevo concepto de agricultura que es económicamente posible, comercialmente competitiva, socialmente deseable y ecológicamente aceptable, denominada agricultura sostenible, que queda ubicada entre la agricultura productivista y la denominada agricultura ecológica.

La agricultura sostenible puede ser definida como un sistema integrado de prácticas de producción, de aplicación ambiente-dependiente, que a largo plazo pueda satisfacer las necesidades de alimentos y fibras de la población mediante la utilización eficiente de insumos y tecnologías agrarias, sin comprometer la conservación de los recursos naturales, la calidad del medio ambiente y la competitividad de los productos en precios y calidades que requieren el comercio internacional.

Sin embargo, resulta muy difícil llevar cabo la puesta en práctica de esta nueva agricultura. Así por ejemplo, los programas de control integrado han tenido más éxito en el control de plagas que en el de enfermedades, entre otras cosas y en el caso concreto del olivar, porque la estimación del riesgo y del umbral económico de

tratamiento de las principales plagas está bien establecida. Sin embargo, en el caso de las enfermedades, el establecimiento de estos umbrales es más difícil. En enfermedades como la Verticilosis del olivo, debido a la naturaleza etiológica y epidemiológica del hongo, las principales estrategias de control integrado son principalmente las medidas preventivas, pero actualmente, son las menos utilizadas. Dichas estrategias preventivas incluyen la elección de suelo de cultivo libre de patógeno, la utilización de material vegetal certificado libre de patógeno, la utilización más eficiente de los cultivares resistentes, la aplicación de agentes de biocontrol disponibles para proteger dicho material de la infección, la modificación de prácticas de cultivo para evitar condiciones demasiado favorables para la enfermedad y la aplicación de productos fitosanitarios para suplementar los insuficientes niveles de protección de otras medidas de lucha. Sin embargo, para el control de enfermedades, la práctica más frecuente es la aplicación de productos fitosanitarios con resultados inmediatos, y que reemplazan a las acciones anteriormente citadas que son mucho más complicadas y molestas de realizar y que dan resultados a más largo plazo (Jiménez Díaz, 2002; 2003; 2004; Montiel Bueno, 1998).

1.4.4 Tipos de olivar

La aplicación de nuevas tecnologías en el olivar ha provocado una transformación del cultivo, que se traduce en una variada tipología agroambiental y paisajística del olivar que conviven en un gradiente continuo y de fronteras difusas, mucho más variado de lo que aparecía a principios de los años ochenta. Esto permite diferenciar al menos, los siguientes modelos (Araque Jiménez et al., 2002):

1. Olivares extensivos. Se emplea este concepto para todas aquellas plantaciones que se asemejan a los cultivos tradicionales, que se reconocen por ser de secano y con marcos de plantación entre los 80 y 100 olivos/ha. Esta tipología también recoge olivares que por su marginalidad están sufriendo un proceso de abandono y olivares explotados bajo criterios ecológicos.
2. Olivares semi-intensivos. Incluye dos grandes grupos, por una parte el olivar extensivo de secano que se ha transformado al regadío y que ha incrementado el número de pies arbóreos por unidad de superficie, y por otra, aquellos olivares que han surgido en la última gran etapa expansiva olivarera a costa de otros terrenos, caracterizados igualmente por la presencia del regadío y marcos de plantación más estrechos pero manteniendo varios pies por olivo.

3. Olivares intensivos. Incluye las modernas explotaciones tecnificadas de regadío con un marco de plantación intensivo. Son olivares con árboles de un solo pie, donde el riego es imprescindible, y con consumo de fertilizantes y otros insumos elevados, lo que produce un aumento del rendimiento y una reducción de los costes de recolección al facilitar enormemente su mecanización.

1.5 PLAGAS Y ENFERMEDADES DEL OLIVO

El conjunto de pérdidas del total en la producción del olivo pueden cifrarse en torno al 30%, de las cuales el 20% sería atribuible al perjuicio que causan los insectos, un 3% debido a enfermedades y el 7% restante a mermas producidas por la competencia con las malas hierbas (Montiel Bueno, 1997). Gracias a la importancia económica, social e histórica del olivo, existe abundante información sobre las plagas y enfermedades que afectan a su cultivo (Alvarado et al., 2001; Civantos, 1999; De Andrés, 1991; Trapero y Blanco, 2001; Tzanakakis, 2006).

Los insectos que son plaga del olivo se clasifican en base a su importancia económica, considerando como plagas principales la Mosca del olivo (*Bactrocera oleae*), la Polilla o Prays (*Prays oleae*) y la Cochinilla de la tizne (*Saissetia oleae*). Aunque la mosca del olivo esté considerada como el insecto más dañino de los tres, todos ellos están extensamente distribuidos por la región del Mediterráneo, causando importantes pérdidas económicas. Otras plagas de insectos menos perniciosas se desarrollan en determinadas áreas o condiciones y pueden ocasionar daños serios. Son lo que se denominan plagas secundarias, como por ejemplo, el Abichado (*Euzophera pingüis*), el Barrenillo del olivo (*Phloeotribus scarabaeoides*), el Barrenillo negro (*Hylesinus oleiperda*), la Polilla del jazmín (*Margaronia unionalis*) o la Acariosis (*Aceria oleae*). Por último, hay otras que, aunque sólo tienen importancia local o temporal, pueden causar graves problemas, como son el Algodón (*Euphyllura olivina*), la Serpeta (*Lepidosaphes ulmi*), la Parlatoria (*Parlatoria oleae*), el Otiorrinco (*Othiorynchus cribricollis*), los Gusanos blancos (*Melolontha papposa*), el Arañuelo (*Liothrips oleae*), y el Mosquito de la corteza (*Clinodiplosis oleisuga*).

Tabla 8. Principales enfermedades del olivo. Adaptado de: Enfermedades. Trapero A, Blanco MA. (2001) En: El Cultivo del Olivo.

ENFERMEDAD	AGENTE	IMPORTANCIA
MICOSIS AÉREAS		
Repilo	<i>Spilocaea oleagina</i>	E
Aceituna jabonosa	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	M
Negrilla	<i>Capnodium elaeophilum</i>	B
Escudete	<i>Camarosporium dalmaticum</i>	B
Emplomado	<i>Mycocentrospora cladosporioides</i>	B
Lepra	<i>Phlyctema vagabunda</i>	B
Otras podredumbres del fruto	<i>Fusarium, Alternaria, Cladosporium, etc.</i>	B
Otras micosis foliares	<i>Stictis, Leveillula, Phyllactinia, etc.</i>	S
Chancros	<i>Eutypa lata, Phoma incopmta, Diplodia</i>	(B)
Caries del tronco	<i>Fomes, Phellinus, Polyborus, Stereum</i>	B
MICOSIS RADICALES		
Verticilosis	<i>Verticillium dahliae</i>	E
Podredumbres, Gelatina	<i>Armillaria, Rosellinia, Omphalotus</i>	B
BACTERIOSIS		
Tuberculosis	<i>Pseudomonas syringae pv. savastanoi</i>	M
VIROSIS		
Malformación foliar, Amarillez	Virus no identificados	(S)
Infecciones latentes	Nepovirus, Cucumovirus, OLV (1 y 2)	(S)
NEMATODOS		
Nódulos/lesiones radiculares	<i>Meloidogyne, Pratylenchus, etc.</i>	S
FANEROGAMÁS		
Muérdago, marajo, cuscuta	<i>Viscum, Cuscuta</i>	S
ABIOTICAS		
Deficiencias nutricionales	Boro, Hierro, Potasio, etc.	M-B
Daños diversos	Heladas, sequías, encharcamiento	E-B

E = extremadamente susceptible, S = susceptible, M = moderadamente susceptible, R = resistente. Entre paréntesis se indican las enfermedades no diagnosticadas en España

El número de enfermedades del olivo conocidas actualmente supera el medio centenar, incluyendo las causadas por hongos, bacterias, virus, fitoplasmas, nematodos, fanerógamas parásitas y agentes abióticos. Sin embargo, solo pocas de ellas suelen revestir importancia económica en la actualidad. Entre ellas, el Repilo, las Aceitunas jabonosas, el Emplomado, la Tuberculosis y las Podredumbres radiculares están adquiriendo una importancia cada vez mayor en la olivicultura intensiva de regadío, existiendo diferentes susceptibilidades según el cultivar (Tablas 8 y 9).

El Repilo está considerada como la micosis más extendida en el mundo y la enfermedad más importante del olivar en España por su extensión y por los daños que ocasiona, especialmente cuando se dan las condiciones favorables para su desarrollo, como es el exceso de humedad. La Verticilosis, enfermedad vascular causada por el hongo *Verticillium dahliae*, se ha situado como la segunda enfermedad más importante del olivar, y es la más preocupante en olivares de nueva plantación debido a su amplia

distribución y a las grandes pérdidas que provoca. Además, está considerada por los especialistas como la limitante sanitaria más importante que presenta el olivo debido a la dificultad de su control. Afecta severamente al olivar en prácticamente todos los países de relevancia oleícola, pero su control eficiente en plantaciones establecidas continúa siendo un reto significativo para los fitopatólogos.

Tabla 9. Susceptibilidad de cultivares de olivo a las principales enfermedades. Adaptado de: Enfermedades. Trapero A, Blanco MA. (2001) En: El Cultivo del Olivo.

CULTIVAR	REPILO	VERTICILOSIS	TUBERCULOSIS	ACEITUNAS JABONOSAS
Picual	S	E	R	R
Cornicabra	E-S	E	E	S
Hojiblanca	E-S	S	S	M-S
Lechín de Sevilla	R	-	S	R
Lechín de Granada	R	E	S	-
Verdial de Badajoz	M	S	E	-
Verdial de Huévar	E	-	R	R
Picudo	E	E	E	S
Empeltre	S	M-R	M	S
Arbequina	E	S	M-R	S
Manzanilla de Sevilla	E	S	E-M	S
Gordal Sevillana	M	-	M	E

E = extremadamente susceptible, S = susceptible, M = moderadamente susceptible, R = resistente, - sin datos

1.6 VERTICILOSIS

1.6.1 Género *Verticillium*, Nees (1817)

El género *Verticillium* pertenece a la subdivisión Deuteromycotina, cuyos miembros carecen de fase sexual conocida y son formadores de conidias; y a la Clase Hyphomycete que comprende a aquellos hongos con micelio verdadero y abundante, con conidióforos descubiertos libres o agrupados (Agris, 1995).

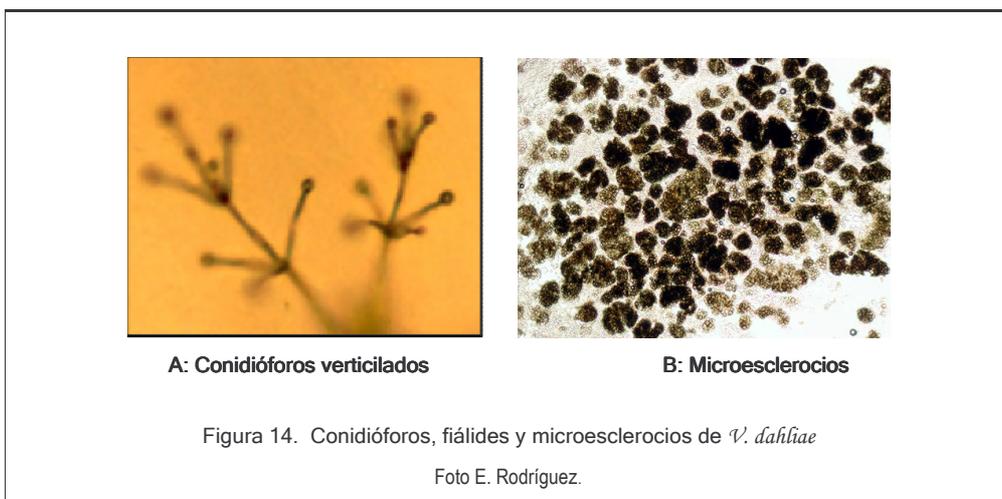
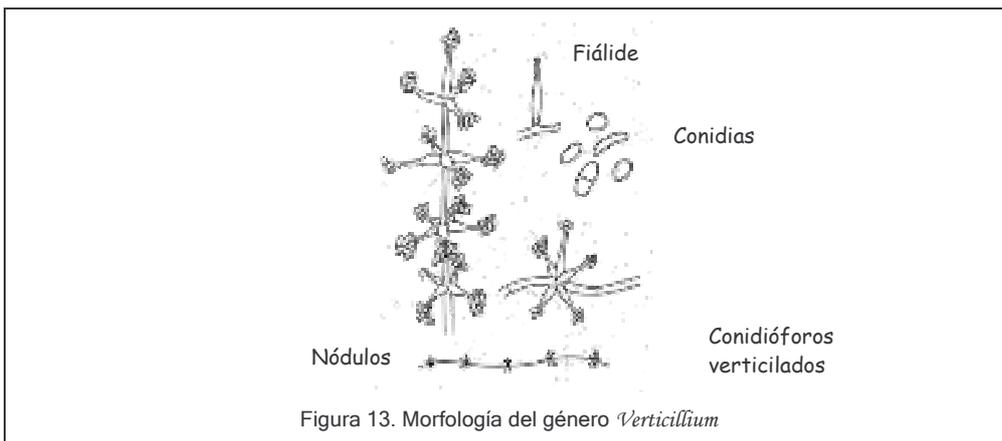
El género se caracteriza morfológicamente por llevar en sus hifas una serie de nódulos equidistantes donde se sitúan los conidióforos con fiálides formando una estructura verticilada. Estos fiálides llevan en sus ápices cabezas más o menos esféricas compuestas de una gran cantidad de conidias sostenidas por mucílago (Figura 13). Las especies pertenecientes a este género (*Verticillium spp.*), algo más de 50, componen un grupo altamente heterogéneo, contando con saprofitos o con patógenos de plantas, de insectos, de nematodos y de otros hongos, resultando, por lo tanto, muchas de ellas de importancia considerable en agricultura. Como una alternativa a los sistemas convencionales de recombinación sexual, la parasexualidad en estos hongos imperfectos ha sido demostrada en el laboratorio en numerosos

estudios y está reconocida como el mecanismo genético que contribuye a su alta diversidad (Pegg y Brady, 2002).

El agente causal de la Verticilosis del olivo es el hongo *Verticillium dahliae* Klebahn (1913). Morfológicamente presenta conidióforos hialinos abundantes, más o menos erectos, que acaban en una serie de ramificaciones con un patrón verticilado (característico del género), que porta de 3-4 fiálides en cada nodo. Las fiálides varían en tamaño entre 16-35 x 1-2,5 micras, tienen forma de botella que se alarga en su extremo superior desde donde se van desprendiendo sucesivamente las conidias o esporas sexuales (Figura 14 A). Las conidias son elipsoidales o sub-cilíndricas, hialinas y presentan un tamaño entre 2,5-8 x 1,4-3,2 micras, son principalmente simples pero ocasionalmente pueden presentar un septo. *V. dahliae* produce esclerocios microscópicos (microesclerocios, MC) que son estructuras globosas de consistencia generalmente dura, formados por filamentos micelioides entrelazados y que cumplen la función de cuerpos de resistencia en condiciones desfavorables pero que germinan en condiciones favorables. Los MC son de color marrón oscuro-negro y son muy variables en forma y tamaño, desde alargados a formas irregularmente esféricas y con tamaños comprendidos entre las 15-50 (-100) micras de diámetro (Figura 14 B) (Hawksworth y Talboys, 1970).

1.6.1.1 Las especies patógenas más importantes

Actualmente se contabilizan unas seis especies, de las cuales dos de ellas, *V. dahliae* y *V. albo-atrum* Reinke y Berthold (1879) son las que poseen mayor cobertura científica debido a la gran importancia agrícola que tienen (Fradin y Thomma, 2006). Son patógenos obligados y capaces de infestar un amplio rango de plantas dicotiledóneas, especialmente en las regiones templadas, aunque también se han extendido a áreas subtropicales y tropicales (Pegg y Brady, 2002; Typas, 1997). Ambas especies han estado íntimamente relacionadas a lo largo de su historia, de forma que en los primeros artículos sobre enfermedades causadas por marchiteces, se citaba simplemente a *Verticillium* como agente causal responsable. Hasta mediados de los años 70 muchos diagnósticos eran erróneos ya que consideraban a *V. dahliae* como una forma de *V. albo-atrum* de manera que en pocos casos las referencias están correctamente asociadas a *V. albo-atrum* (Harris, 1998a).



Se diferencian principalmente porque *V. albo-atrum* presenta la base de los conidióforos oscura y produce como estructura de resistencia un micelio oscuro. Infecta principalmente a alfalfa, lúpulo, tomate y patata. Por el contrario, *V. dahliae* tiene la base de los conidióforos hialinos y forma microesclerocios (MC) como estructura de resistencia. Ataca al algodón, tomate, berenjena, pimiento, fresa, patata, cucurbitáceas, mentas, ornamentales y árboles frutales. *V. dahliae* tiene una distribución comprendida entre las latitudes 60N° y 50S°, más amplia que *V. albo-atrum* y posee un mayor límite de temperatura máxima (Heale, 1988; Pegg, 1984).

Otras especies del género, como son *V. nigrescens*, *V. nubilum* (Pethybridge, 1919) y *V. tricorpus* (Isaac, 1953) infectan plantas o son saprófitos pero, en general, resultan mucho menos patogénicas. *V. tricorpus* se diferencia morfológicamente por producir un micelio oscuro, MC y clamidosporas, así como pigmentos amarillentos-anaranjados que difunden en el medio de cultivo. Causa daños especialmente en algodón y tomate.

V. nigrescens y *V. nubilum* forman sólo clamidosporas, son principalmente saprofitos y se encuentran ocasionalmente atacando a la patata (Heale, 1997). Otra especie, *V. theobromae* (Turconi) Mason & Hughes in Hughes (1951), produce como estructura de resistencia caracterizada como un micelio septado marrón pálido y ataca al fruto de la banana causando las típicas podredumbres del plátano (Barbara y Cleves, 2003).

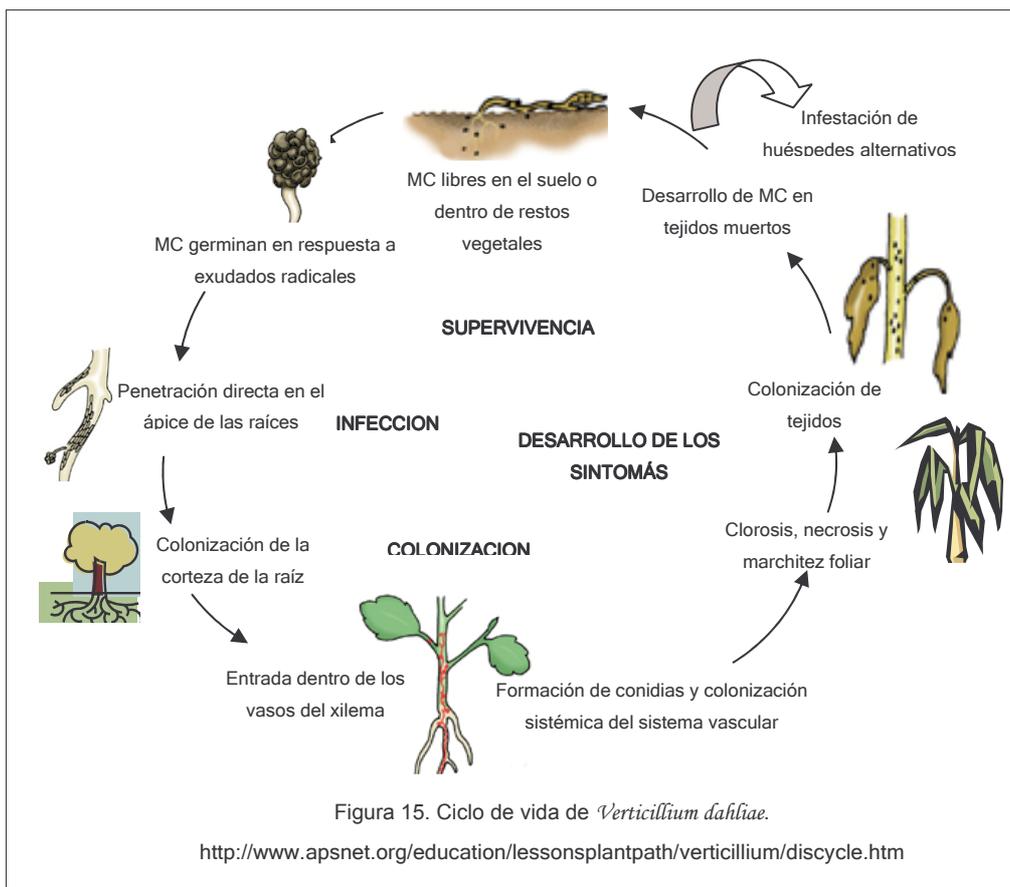
La taxonomía del grupo se está revisando todavía y muchas especies tienen una caracterización difícil y polémica. Existe una séptima especie, *V. longisporum*, que fue definida por primera vez por Stark (1961) como una variedad de *V. dahliae* var. *longisporum* ya que poseía unas conidias de longitud dos veces superior. Después se registraron más aislados en este sentido (Jackson y Heale, 1985; Puhalla y Hummel, 1983; Subbarao et al., 1995) y en 1997, Karapapa y colaboradores, basándose en características moleculares, la propusieron como una nueva especie que incluía a aquellos aislados que poseían conidias más largas, un mayor contenido de ADN y que eran capaces de infectar a plantas de la familia *Brassicaceae*. Esta especie quedaba definida como una forma híbrida entre *V. dahliae* y *V. albo-atrum* (Collins et al., 2003; Karapapa et al., 1997). Sin embargo, actualmente existe controversia en cuanto al reconocimiento de *V. longisporum* como especie nueva en base a que aislados de conidias cortas pueden también infectar miembros de la familia *Brassicaceae* (Collins et al., 2003) y a que *V. longisporum* también puede infectar a miembros fuera de esta misma familia. Análisis filogenéticos recientes, basándose en secuencias de ADN nuclear y mitocondrial, sitúan a *V. albo-atrum*, *V. dahliae* y *V. longisporum* como especies muy similares, colocando a *V. longisporum* como una especie nueva pero estrechamente relacionada con *V. albo-atrum* (Fahleson et al., 2004). Barbara y Clewes (2003) revisan el género y cuantifican y clasifican las diferentes especies patógenas en plantas según las estructuras de resistencia que producen.

El género *Verticillium* cuenta además con especies saprofitas (*V. lateritum*), y especies micopatógenas, como *V. fungicola* y *V. psalliotae*, que causan pérdidas importantes en el cultivo de setas. Otras especies de *Verticillium* poseen gran potencialidad como agentes de biocontrol contra insectos (*V. lecanii*) y nematodos (*V. chlamydosporum* Goddard, 1913). Estas especies poseen poca especificidad de huésped de forma que las especies patógenas para hongos, *V. fungicola* y *V. lamellicola*, son también patógenas para ácaros e insectos (Balazy et al., 1987; Heale, 1997; Leinhos y Buchenauer, 1992; Pegg y Brady, 2002). Los estudios moleculares ponen de manifiesto que las especies patógenas de plantas difieren mucho de las demás especies del género *Verticillium* (Carder y Barbara, 1991; Zare et al., 2000).

1.6.2 Ciclo de vida de *Verticillium dahliae*

Fase de supervivencia. Los responsables de la supervivencia y dispersión del patógeno son los MC producidos por *V. dahliae*, que pueden sobrevivir bajo condiciones de campo hasta 13 años en ausencia de hospedadores (Schnathorst, 1981). La mayoría de los MC se encuentran en las primeras capas del suelo o en el suelo arable (Green, 1957; Hiemstra, 1998; Wilhelm, 1950) (Figura 15).

Fase de infección: Los MC son estimulados a germinar en el suelo en respuesta a exudados radicales tanto de plantas hospedadoras como no hospedadoras (Fitzell et al., 1980; Lacy y Horner, 1966; Levy y Isaac, 1976; Schreiber y Green, 1963), o por la adición o liberación de nutrientes en el suelo (Farley et al., 1971; Green y Papavizas, 1968). La germinación se ve favorecida por condiciones ambientales favorables, como suelos húmedos y rangos de temperaturas comprendidos entre los 21-27°C (70-81°F). Entonces, los MC producen pequeñas hifas infectivas que penetran en la corteza de las raíces jóvenes de la planta. La infección de la raíz ocurre sólo si los MC están muy cerca o en contacto directo con las raíces y acontece en el ápice de la raíz o en sitios donde hay heridas de diversa naturaleza (Huisman, 1978; 1982; Perry y Evert, 1983). Los síntomas de la enfermedad son más severos cuando hay interacción con otros patógenos, por ejemplo: a) Hongos como *Rhizoctonia*, *Fusarium* y *Colletotrichum* (Gutmestad et al., 1977); b) Nematodos como *Pratylenchus* (Kotkon y Rouse, 1984; Riedel y Rowe, 1985), *Meloidogyne* (Krikun y Orion, 1978) y *Globodera* (Franco y Bendezú, 1985) y c) Bacterias como *Erwinia* (Rahimian y Mitchell, 1984). Con respecto a los nematodos, la infección de las raíces por parte de éstos puede aumentar la frecuencia de la Verticilosis y tener un efecto sinérgico sobre la severidad de los síntomas (Pegg y Brady, 2002) ya que provocan heridas que facilitan la entrada de hongos. Además, estas heridas suelen estimular exudados radiculares que provocan la germinación de los MC de *V. dahliae*, y finalmente, promueven cambios en la composición del xilema que suscita la germinación de las conidias, y por lo tanto, la progresión de la enfermedad (Katsantonis et al., 2005). Esto es importante debido a que los nematodos son un problema creciente en los viveros de olivos, y puede convertirse a medio plazo en un problema fitosanitario de impacto moderado sobre las nuevas plantaciones de olivar (Castillo et al., 2003). Una vez que se ha producido la infección, las hifas crecen hasta alcanzar el sistema vascular. En condiciones de laboratorio, la penetración en el sistema vascular en diversos árboles como el cacao (Emechebe et al., 1972) y ornamentales tales como *Fraxinus pennsylvanica*, *Cercis canadensis* y *Platanus occidentalis*, se produce en el periodo de una semana.



Fase de colonización: Cuando el patógeno alcanza el xilema se extiende por crecimiento micelial, y coloniza la planta por medio de la formación de conidias que son producidas por el micelio existente y son translocadas por la corriente de savia a zonas superiores (Figura 15). En este sentido, el patógeno llega a ser sistémico en cultivos susceptibles en periodos de tiempo muy breves (Hiemstra, 1998). Rodríguez Jurado (1993) estudió la infección y colonización en variedades de olivo de diversa resistencia y con ambos patotipos y halló conidias en el xilema a los 14 días de la inoculación. La colonización del sistema vascular por parte del hongo resulta en una oclusión de los vasos y la respuesta de la planta a la invasión resulta en los síntomas típicos reconocibles de esta enfermedad.

Fase de desarrollo de los síntomas: La marchitez es la característica más evidente de esta enfermedad (Figura 15) y se debe por un lado al efecto tóxico de metabolitos producidos por el hongo, y por el otro, a la acumulación en los tejidos vasculares de estructuras del hongo y materiales producidos por el huésped, que pueden sufrir una serie de cambios fisiológicos encaminados a suprimir o retardar la invasión de dicho patógeno. Ambos procesos combinados conducen a una reducción

del flujo de agua y por consiguiente al déficit hídrico en la planta. El principal cambio es el refuerzo de la pared celular y de los vasos del xilema, que presentan una atípica acumulación o depósito impermeable de sustancias gelatinosas o de bajo peso molecular, tales como fitoalexinas y fenoles producidos por la planta. Los vasos se vuelven de color marrón y se produce el pardeamiento característico (Hiemstra, 1998).

La técnica de PCR cuantitativa en tiempo real ha sido recientemente utilizada como herramienta para la monitorización del progreso de infección de la planta por el patógeno (Mercado Blanco et al., 2003b), poniendo de manifiesto que los máximos de incidencia y severidad de la enfermedad se anteceden por un rápido aumento de la cantidad del patógeno, que primero tiene lugar en las raíces y a continuación en los tallos. Además, la extensión de la colonización vascular puede correlacionarse con la resistencia o susceptibilidad al patógeno. Así, la resistencia del cultivar de la planta, en menor medida, la virulencia del aislado, y especialmente el sistema radicular, determinan el nivel de colonización.

1.6.3 Huéspedes de *Verticillium dahliae*

La Verticilosis afecta a un gran número de huéspedes como especies anuales y perennes de interés agrícola u ornamental. Generalmente, suele estar asociada a plantas dicotiledóneas, mientras que las plantas monocotiledóneas raramente han sido citadas como verdaderos hospedadores de *Verticillium*. Una amplia lista de huéspedes de las diferentes especies de *Verticillium spp.* puede ser consultada en Pegg y Brady (2002). Como huéspedes arbóreos más importantes destacan el albaricoque, almendro, cerezo, melocotón, nectarina, ciruelo, pistacho, arce, fresno, cacao y el olivo, (Hiemstra y Harris, 1998). Este amplio rango de huéspedes es importante a la hora de realizar un control eficiente de la Verticilosis ya que muchos de ellos pueden actuar en el olivar como hospedadores secundarios manteniendo y/o aumentando la cantidad de inóculo en el suelo.

1.6.4 Variabilidad en *Verticillium dahliae*

Los aislados que componen las poblaciones de *V. dahliae* son tremendamente versátiles y poseen un amplio rango de plantas huéspedes y no suelen presentar especialización patogénica sobre un hospedador en particular.

1.6.4.1 VCGs

En ausencia de estado sexual, la parasexualidad como mecanismo de intercambio genético en el género *Verticillium* ha sido investigada desde los años 60 y es un proceso demostrado para este género (Katan, 1997). En la parasexualidad, la fusión de dos hifas resulta en un micelio con núcleos de ambas cepas parentales. Este heterocarionte es normalmente estable, con los núcleos mezclados pero que no interactúan. Aquellos aislados en los que se produce anastomosis de hifas compatibles y originan un heterocarionte viable, formarán o se agruparán dentro de un mismo Grupo de Compatibilidad Vegetativa (VCG). Por el contrario, aquellos aislados en los que no se produce anastomosis de hifas formarán parte de VCGs diferentes (Leslie, 1993).

La clasificación de cepas en VCGs puede ser una herramienta muy útil al analizar poblaciones de hongos (Puhalla, 1979). En el caso de *V. dahliae*, Joaquim y Rowe (1990) usando mutantes auxotróficos para la ruta biosintética del nitrógeno, definieron cuatro VCGs de *V. dahliae*: VCG1, VCG2, VCG3 y VCG4. Además VCG 2 y 4 están subdivididos en los subgrupos: A y B. Los análisis de compatibilidad vegetativa han sido utilizados para examinar las poblaciones de *V. dahliae* y su diversidad en Israel (Tsor y Levin, 2003) y en Marruecos (Cherrab et al., 2002).

Normalmente, los aislados de un grupo de VCG son similares molecularmente, y aislados de diferentes áreas geográficas u hospedadores varían considerablemente en morfología y patogenicidad (Chen, 1994; Daayf et al., 1995). Sin embargo, Bell (1994) encontró un amplio rango de virulencia entre aislados dentro de cada grupo a excepción de los VCG1, por lo que es necesario ir con cautela a la hora de asumir la virulencia de un VCG (Barbara et al., 1998). Collado y colaboradores (2006) y Jiménez Díaz y colaboradores (2006) encontraron también variabilidad genética dentro y entre grupos de VCGs de diferentes hospedadores y áreas geográficas.

Los VCGs no suelen presentar especialización patogénica sobre un hospedador en particular, aunque puede haber una correlación de la virulencia con ciertos huéspedes (Elena y Paplomatas, 1998; Rowe, 1995). Por ejemplo, se ha demostrado que aislados de plantas herbáceas pueden infectar también plantas leñosas. En inoculaciones cruzadas, aislados de *V. dahliae* obtenidos de berenjena, tomate y pimiento resultaron patogénicos sobre olivo, y aislados obtenidos de olivo fueron patogénicos de diversos cultivos hortícolas (Jiménez Díaz, 1997). Pero por otro lado, aislados obtenidos de plantas de menta son más patogénicos para su hospedador que aislados obtenidos de otras plantas huéspedes (Green, 1951), o aislados defoliantes

(D) y pertenecientes al grupo VCG 1 son altamente virulentos en algodón y olivo, pero no son altamente infectivos en alcachofa (Jiménez Díaz et al., 2006).

1.6.4.2 Patotipos

Schnathorst y Mathre (1966) encontraron en California aislados en algodón a los que clasificaron como defoliantes (D) y no defoliantes (ND) y los definieron respectivamente de acuerdo con su habilidad para defoliar al huésped en mayor o menor medida. Inicialmente, el patotipo D resultó estar más restringido que el ND, aunque posteriormente el patotipo D fue citado en otras áreas geográficas como Perú (Mathre et al., 1966), China (Lu et al., 1987), España (Blanco López et al., 1987), Irán (Hamdolall-Zadeh, 1993), Asia central (Daayf et al., 1995) e Israel (Korolev et al., 1999). En Andalucía, las poblaciones de *V. dahliae* que atacan a algodónero contienen aislados altamente virulentos, defoliantes y letales (patotipo defoliante) y aislados del patógeno moderadamente virulentos y causantes de una marchitez progresiva del algodónero sin defoliación (patotipo no defoliante) (Bejarano Alcázar et al., 1996). Uno de los aspectos que dificultan el control de la Verticilosis en el cultivo del olivo es la existencia de estos dos patotipos, mostrando ambos cultivos (olivo y algodón) virulencia cruzada. El patotipo D puede ser letal en cultivares de ambas plantas que son tolerantes al patotipo ND. Los cultivares infectados por el patotipo ND pueden recuperarse de los síntomas y, en el caso del olivo, mostrarse como árboles asintomáticos aunque permanezcan infectados (Rodríguez Jurado, 1993; Mercado Blanco et al., 2001). La virulencia de los aislados en otras especies susceptibles puede ser diferente a la descrita para el olivo y el algodón, así diversos estudios indican que los aislados caracterizados como patotipo ND de alcachofa y tomate son más virulentos que aislados D (Jiménez Díaz et al., 2006).

En España, el patotipo D se encontró originariamente en 1983 y quedaba restringido a las marismas de Guadalquivir (Sevilla) donde el algodónero era intensamente cultivado (Blanco López et al., 1987). En prospecciones posteriores mientras que el ND se localizaba a lo largo de todo el valle, el D se localizaba en las partes bajas del mismo (Bejarano Alcázar et al., 1996). Desde entonces diferentes estudios indican la expansión del patotipo D. En el año 2001, López Escudero y Blanco López en estudios de control mediante solarización en parcelas naturalmente infectadas por *V. dahliae*, detectaron el aislado D infectando olivos a una distancia de 150 Km de la zona inicial de las marismas, manifestando la diseminación de dicho patotipo a otras áreas de Andalucía que estaban cercanas a las típicamente olivareras, lo que representaba una amenaza para las nuevas plantaciones de olivar. Bejarano Alcázar y colaboradores en 2001 lo detectaron en casi un 60% de los campos de

algodón situados en la parte central del valle, a 200 Km de su sitio de origen. Mercado Blanco y colaboradores (2003a) lo detectan en provincias como Córdoba y Sevilla y en una plantación de Granada con olivares de más de 25 años de edad. Posteriormente, en resultados preliminares de este estudio (Rodríguez et al., 2004), demuestran que el aislado defoliante parece estar bien establecido en la provincia de Granada.

Pérez Artes y colaboradores (2000) especulan sobre la ocurrencia reciente del patotipo D y sobre su origen en Europa desde que fue detectado. Debido a que ambos patotipos (ND, D) pertenecen a VCGs diferentes parece inverosímil que el patotipo D se originase como una variante de la población nativa ND de *V. dahliae*. Este supuesto, junto con el hecho de que los aislados D y ND del algodón en España son muy similares en características morfológicas, fisiológicas y patógenas a los aislados SS-4 y T-9 de algodón en California y son representativos de los patotipos ND y D, respectivamente (Bejarano Alcázar et al., 1996; Schnathorst, 1973; Schnathorst y Mathre, 1966), hacen pensar que el patotipo D pudo haberse introducido en España desde el exterior. También observaron que los aislados D procedentes de California, China y España eran molecularmente muy similares y tampoco encontraron diferencias entre los patotipos D aislados de algodón y olivo, sugiriendo que el inóculo para la infección de ambos cultivos puede venir de la misma fuente. Posteriormente, Korolev y colaboradores (2001) coincidieron en algunos de estos aspectos al estudiar aislados de algodón en España e Israel y encontrar que los aislados D pertenecen al VCG1 mientras que los ND pertenecen a los VCG2A y VCG4B, concluyendo que el patotipo D es patológicamente y genéticamente homogéneo, mientras que el patotipo ND es heterogéneo respecto a la virulencia, VCG y marcadores moleculares.

1.6.5 Densidad de inóculo y dispersión

La Verticilosis es una enfermedad monocíclica, por lo que a efectos predictivos, los niveles de inóculo de *V. dahliae* en el suelo tienen un papel fundamental en su epidemiología. La intensidad de enfermedad que se produce en un cultivo susceptible depende de la cantidad de inóculo presente en el suelo al comienzo del cultivo y de la tasa de infección. La densidad de inóculo se expresa como el número de propágulos viables del patógeno existentes en el suelo por unidad de peso o volumen (ppg) (Xiao et al., 1998). La tasa de infección refleja la eficacia de ese inóculo y está determinada por parámetros dependientes del huésped (resistencia varietal, nivel de nutrición, edad, etc.), del patógeno (virulencia) o del ambiente (temperatura del aire, humedad, tipos de suelo, etc.). Entre 6-10 MC por gramo de suelo pueden causar un 80% de enfermedad en cultivos como patata y tomate (Grogan et al., 1979; Nicot y Rouse, 1987).

Cantidades de 1 MC por gramo de suelo pueden incluso provocar marchiteces en cultivos como la fresa y el tomate (Grogan et al., 1979; Harris y Yang, 1996). En el caso del algodón, parece suficiente entre 6-8 ppg del patotipo defoliante para originar una incidencia de la enfermedad del 100%, frente a los 35-40 ppg del patotipo no defoliante para causar la misma intensidad de enfermedad en variedades susceptibles (Bejarano Alcázar et al., 1995). En cultivos leñosos, como el olivo, esta relación predictiva no es tan directa, ya que la enfermedad se origina por nuevas infecciones que son causadas tanto por el inóculo presente en el suelo como por las infecciones inducidas por el inóculo previamente establecido en las raíces de las plantas. Además, al inóculo que hay en el suelo en el momento en el que se establece la plantación hay que añadir el que se va generando de forma más o menos continuada a lo largo de los años por material vegetal senescente, como las hojas caídas al suelo.

Desafortunadamente, la gran supervivencia de los MC en el suelo contribuye a que el hongo pueda ser dispersado dentro y entre parcelas. La dispersión a largas distancias puede ocurrir bien por el uso de material vegetal infectado, o bien por el transporte de los restos de plantas infectadas, como por ejemplo de algodón y olivo. Una vez incorporados al suelo, los MC son ampliamente distribuidos por la descomposición y otras actividades de organismos del suelo, de manera que cualquier factor que permita movimientos de tierras o de material vegetal infectado contribuirá a la dispersión del patógeno.

A corta distancia, la dispersión se ve favorecida especialmente por prácticas culturales mediante aperos de labranza, agua de riego y viento (Easton et al., 1969). En el caso concreto del olivar, la dispersión de propágulos a cortas distancias puede ocurrir por medio del riego por gravedad o inundación (Thanassoulopoulos et al., 1981). Los aperos de labranza y material vegetal infectado, como restos de plantas enfermas y hojas caídas (Wilhem y Taylor, 1965), también contribuyen a la difusión del patógeno. Referente a las hojas, sirve citar el hecho de que el patotipo D en una plantación de Arbequina en dos años y medio se extendió de tres a 106 olivos, con un máximo de 19 nuevos olivos afectados por mes y con una distribución isodiamétrica (Navas Cortés y Trapero Casas, 2002). Rodríguez Jurado y colaboradores (2002) estimaron que en ocho meses, olivos enfermos por el patotipo D tiraron un promedio de 4.000 hojas/olivo, de las cuales, más del 67% contenía *V. dahliae*.

La dispersión a larga distancia puede ocurrir bien por el uso de material vegetal infectado, o bien por el transporte de los restos de plantas infectadas, como por ejemplo de algodón y olivo. El hombre interviene en la dispersión a grandes distancias con el transporte de las cosechas, así como del material infectado de unas zonas a otras (Schnathorst y Sibbett, 1971; Thanassoulopoulos, 1993; Wilhelm y Taylor, 1965).

En Andalucía, por ejemplo, observaciones de Blanco López y Jiménez Díaz (1995) sugieren que en la distribución del patotipo defoliante, inicialmente localizado en las marismas del Guadalquivir (Bejarano et al., 1996), ha contribuido el transporte de fibra de algodón procedente de plantas infectadas para su procesado en las zonas interiores del valle del Guadalquivir, hasta Córdoba. El papel que juegan los plantales en la utilización y distribución de plantones infectados para establecer nuevos olivares es determinante en la diseminación a larga distancia del *V. dahliae*, ya que plantas asintomáticas pero infectadas pueden ser llevadas al campo desde el lugar de producción de forma inadvertida (Mercado-Blanco et al., 2002). En Grecia y Jordania se relaciona la extensión de la enfermedad con el establecimiento de viveros en lugares cercanos a zonas intensamente infectadas por el patógeno (Naser y Al radad Al momany, 1998; Thanassoulopoulos, 1993). Esto es especialmente relevante en el caso del patotipo defoliante, altamente virulento. Es probable que los viveros hayan tenido mucho que ver con la aparición de la Verticilosis en suelos no agrícolas recientemente roturados en diversas zonas españolas, como Aragón, Castilla, o donde no consta el cultivo de plantas susceptibles.

La importancia de la obtención de plantas de vivero libres de enfermedades y de su uso en las nuevas plantaciones ha sido recogida en la normativa relativa a la certificación de plantas de vivero de olivo vigente actualmente en España (RD 1678/1999, BOE Nº 276) y en el reglamento específico de producción integrada del olivar elaborada en Andalucía (Orden del 18/7/2002, BOJA Nº 88).

El agua de riego puede transportar de un campo a otro el inóculo, concretamente microesclerocios, y originar infecciones en olivares establecidos en suelos no infectados (Rodríguez et al., 2005). Esto puede ser muy importante en olivares regados con aguas superficiales, concretamente en Granada, donde este tipo de riego con aguas superficiales de ríos y pantanos supone el 66%.

Las cubiertas inertes son un complemento o alternativa entre otros sistemas de manejo de suelo en la lucha contra la erosión que sufre el olivar. Se ha puesto manifiesto que los restos de poda procedentes de olivos infectados podrían contribuir al incremento y dispersión del inóculo de *V. dahliae* en el suelo cuando son utilizados como cubierta inerte (Cabeza Fernández y Bejarano-Alcázar, 2005).

El estiércol procedente de ovejas alimentadas de restos vegetales de plantas infectadas por *V. dahliae* también puede contribuir a la dispersión del hongo (López Escudero y Blanco López, 1999).

1.6.6 *Verticillium dahliae* y el cultivo del olivo

1.6.6.1 Distribución e importancia

La VO se diagnosticó por primera vez en Italia, en el año 1946 (Ruggieri, 1946), después se ha descrito en California (Snyder et al., 1950), Grecia (Zachos, 1963), Australia (Morschel, 1961), Arizona (Boyle 1963), Turquía (Saydam y Copcu, 1972), Francia (Vigoroux, 1975), España (Caballero et al., 1980), e Israel, (Levin y Tsrer, 2002). De muy recientemente introducción es en los olivares de Túnez, donde en el año 2001 no aparece reseñada como una enfermedad importante en el olivar (Boulila, 2001) y se ha citado por vez primera en el año 2006 (Triki et al., 2006). En cuanto a los daños que produce, estudios en Siria, ponen de manifiesto que esta enfermedad es responsable de graves pérdidas en el 3% de los árboles y llegan a morir un 0,1% de los mismos (Al-Ahmad, 1988). Estudios posteriores en este país registraron que entre el 0,9 y el 4,5 % de un total de 6,5 millones de árboles estaban afectados por Verticilosis, con una pérdida total estimada entre el 1 y 2,3 % de la producción anual (Al-Ahmad y Mosli, 1993). Thanassoloupoulos y colaboradores (1979) realizaron una prospección en olivares en Grecia donde el 2-3% de 14 millones de árboles estaban afectados por la enfermedad y estimaron que la pérdida total de la cosecha giraba entorno al 1% de la producción total del país. Estudios recientes en Marruecos muestran ataques del 60% en 128 parcelas con incidencia entre 10 - 30% de los árboles (Serrhini y Zeroual, 1995). La incidencia de la enfermedad en Argelia varió entre 30% y el 5% con una media del 12%, detectándose focos de la enfermedad en la mayoría de los regiones olivareras de este país (Bellahcene et al., 2000). Recientemente en Apulia (Italia), se detectó Verticilosis en un 18% de los campos prospectados al azar con casi 1.400 olivos muestreados (Nigro et al., 2005). Estos datos reflejan la amplia distribución de la VO en la cuenca del mediterráneo, y en la mayor parte de los países productores allí donde el olivo es cultivado, lo que hace que sea considerada por los especialistas como una de las enfermedades más serias que afecta al olivar debido a su extensión y la dificultad de su control.

En España, la VO se identifica por primera vez en 1975 en campos experimentales cordobeses (Caballero et al., 1980). Poco después se hizo la primera prospección durante los años 1980-1983 en las cuatro principales provincias olivareras andaluzas, donde contabilizaron que un 38,5% de 122 plantaciones de menos de 15 años estaban afectadas por VO y que tenían un grado de incidencia entre el 10-90%, aunque lo más frecuente fue un 10%. Este trabajo ultimó que la VO estaba bien establecida en olivares de Jaén y Córdoba, pero que era menos prevalente en las provincias de Sevilla y Granada (Blanco López et al., 1984). Desde entonces hasta

ahora la extensión de la VO ha sido continuada y ha ido unida a la modernización y extensión del cultivo del olivo, de manera que la Verticilosis del olivo no es posible entenderla sin haber comprendido la evolución del cultivo y su historia más reciente (Blanco López y Jiménez Díaz, 1995). Inspecciones posteriores en olivares de Andalucía sobre la seca del olivo en el periodo 1994-1996 detectaron que del 39,3% de los casos de 112 plantaciones con olivos con síntomas, entre el 4% y el 10% de los daños eran atribuibles a la Verticilosis (Sánchez Hernández et al., 1998). La enfermedad se ha ido extendiendo a nuevas provincias donde los ataques por Verticilosis son cada vez más frecuentes, como Córdoba, Jaén y Sevilla (Blanco López y Jiménez Díaz, 1995). Concretamente inspecciones realizadas en Jaén en el periodo 2001-2003 dan una prevalencia del 30% (Ávila et al., 2005). Además, hay indicios de que la enfermedad se ha establecido en otras zonas olivareras de la península como Castilla-Mancha y la Comunidad Valenciana (Jiménez Díaz et al., 2003).

1.6.6.2 Sintomatología y daños

La Verticilosis debilita gravemente al árbol, lo que se traduce no solo en baja producción, sino en que el fruto no madura bien y esto conlleva a la obtención de aceites de baja calidad (Civantos, 1999). A pesar de que la sintomatología de la VO es bastante típica en el olivar, puede ser confundida con la producida por otras enfermedades, como podredumbres radiculares y plagas del olivar, como por ejemplo, abichado o gusanos de la raíz, o incluso por factores abióticos como heladas o sequías.

En Andalucía, se han descrito dos tipos de sintomatologías dependiendo de la época en la que se desarrollen las mismas (Blanco López et al., 1984); la apoplejía y el decaimiento lento. La primera es una muerte súbita que tiene lugar entre el final del invierno y principios de la primavera. Sectores de la planta o el árbol completo se secan totalmente en un breve periodo de tiempo. Se inicia con una pérdida del color verde intenso típico del olivo, adquiriendo una tonalidad marrón claro y las hojas se enrollan longitudinalmente hacia el envés. Puede aparecer una coloración violácea en la corteza y solo ocasionalmente en cortes transversales cercanos a la zona afectada se observa una coloración castaño-oscura del xilema (Figuras 16 y 17). En árboles jóvenes las plantas se desfolian y con frecuencia el árbol muere. En los adultos las hojas suelen quedar adheridas y rara vez mueren (Jiménez Díaz, 1997).

En el decaimiento lento, los síntomas aparecen en primavera y se desarrollan de forma más gradual hasta principios del verano. El síntoma más característico y el primero en aparecer es la necrosis de las inflorescencias, que adquieren un aspecto típico momificado. En este caso, las hojas de las ramas pierden coloración y se caen

antes de secarse, a excepción de las situadas en el extremo que permanecen adheridas hasta después del verano (Figura 18) (Jiménez Díaz, 1997).



Figura 16. Rama afectada

Foto: E. Rodríguez

Estas dos sintomatologías han sido descritas también en otros países como, Grecia (Thanassouloupoulos et al., 1979; Zachos 1963), Italia (Cirulli, 1975; Tosi y Zizzerini, 1998), Marruecos (Serrhini y Zeroual, 1995), Siria, (Al-Ahmad y Mosli, 1993) y Francia (Vigouroux, 1975). La severidad de la enfermedad depende de la virulencia de los patotipos (defoliante D y no defoliante ND), ya que mientras las infecciones por el patotipo D pueden ser letales para la planta, los olivos afectados por el patotipo ND pueden incluso recuperarse de los síntomas y en el transcurso del tiempo en algunos casos mostrar un estado asintomático, aún permaneciendo infectados por el patógeno, facilitando así la extensión de la enfermedad (Mercado Blanco et al., 2002).

En campo, la enfermedad suele aparecer a los dos años de la plantación y, aunque la expresión temprana depende de varios factores, muy probablemente esté asociada a la ocurrencia de lluvias abundantes en otoño y a temperaturas moderadas en otoño e invierno (Blanco López y Jiménez Díaz, 1995). La severidad de las infecciones se ve favorecida por temperaturas bajas o moderadas en el aire, entre 21-25°C, mientras que las temperaturas superiores a los 30°C pueden inhibir la expresión de los síntomas (Bell, 1992; Wilhem y Taylor, 1965). Las temperaturas medias predominantes en Andalucía en los meses de julio y agosto suelen ser restrictivas para la manifestación de los síntomas, por lo que los periodos críticos para el desarrollo de los síntomas son el otoño y los meses comprendidos entre el final del invierno y principio de la primavera, recuperándose los síntomas en las plantas después de periodos de altas temperaturas.

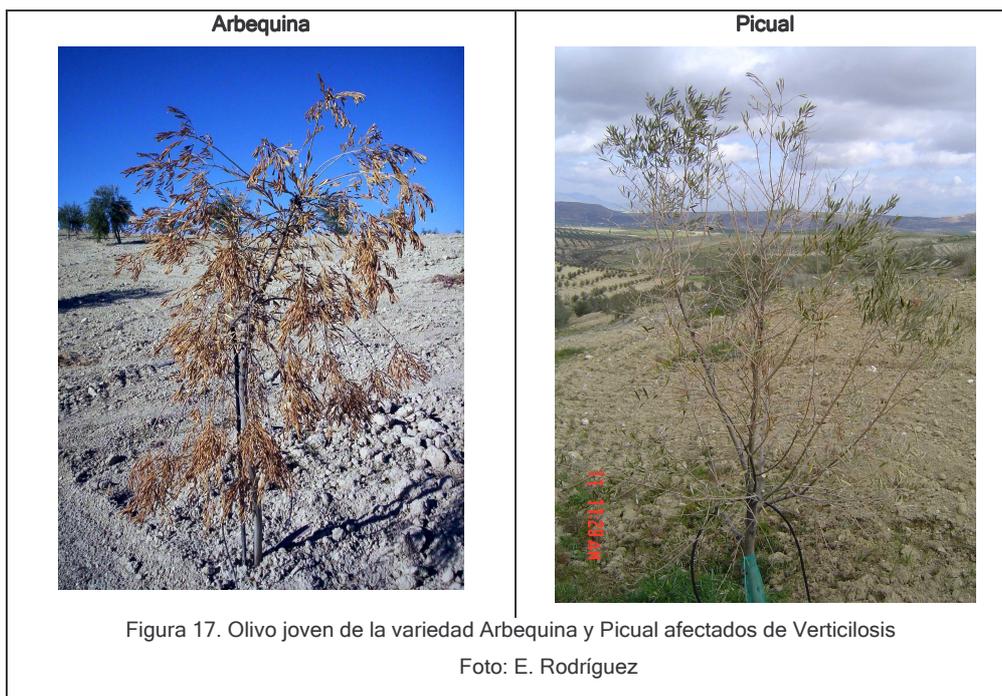


Figura 18. Inflorescencias secas

Foto: E. Rodríguez

1.6.6.3 Recuperación de los síntomas

El fenómeno de recuperación natural de los síntomas ha sido descrito en olivo (Blanco López et al., 1990) y otras leñosas. Consiste en un fenómeno natural asociado a mecanismos complejos que permiten a los árboles superar daños y decaimientos. Algunos autores lo explican debido a la compartimentación o muerte del patógeno por la formación de un nuevo xilema (Hiemstra, 1998). En estudios de inoculación artificial en olivo se ha cuantificado el porcentaje de recuperación en un 53%, y dicho porcentaje es mayor cuando el olivo está infectado por el aislado ND que por el D. La

recuperación de la VO puede ser permanente en ausencia de infecciones, por ello, es un mecanismo muy importante en suelos con baja densidad de inóculo y con aislados de menor virulencia (López Escudero y Blanco López, 2005a).

1.6.6.4 Variedades resistentes

La resistencia de una variedad es debida a la capacidad de frenar la colonización, aunque no impide la penetración e infección, expresando la planta síntomas menos severos (Blanco López y López Escudero, 2005). La respuesta varietal del olivo a *V. dahliae* en inoculaciones artificiales es muy variada, lo que demuestra la existencia de variabilidad en su resistencia al patógeno. La resistencia en campo depende del potencial de inóculo en el suelo y de factores ambientales, por ello al hablar de resistencia a *V. dahliae* es necesario definir los componentes del sistema. La susceptibilidad de todas las variedades que han sido evaluadas hasta el momento ha sido mayor al patotipo defoliante que al no defoliante. Ninguna de estas variedades ha sido resistente a la variante patogénica más virulenta. Los cultivares de mayor interés comercial en la actualidad, como Arbequina, Hojiblanca, Cornicabra y Picual, son extremadamente susceptibles al D y susceptibles al ND (Blanco López y López Escudero, 2005). La susceptibilidad de la variedad Cornicabra a ambos patotipos también ha sido comprobada por Porras Soriano y colaboradores. (2003). El nivel de resistencia que presentan algunos otros cultivares también ha sido ensayado como es el caso de Empeltre y Frantoio (Oblonga) que son moderadamente susceptibles a D y resistentes al ND, por lo que puede resultar su resistencia insuficiente en el control de la enfermedad cuando los suelos están infectados por el patotipo D. Las variedades Lechín de Granada y Picudo son extremadamente susceptibles al D y moderadamente susceptible al ND (López Escudero et al., 2004; Martos Moreno y Blanco López, 2001).

Por otro lado, ensayos de injertos de plantas jóvenes de variedades comerciales como Cornicabra en cultivares resistentes, como Frantoio, reducen la susceptibilidad a *V. dahliae* (Porras Soriano et al., 2003). Ambos patotipos son débilmente virulentos sobre el acebuche, el cual ha resultado resistente a la enfermedad en inoculaciones artificiales (Parrilla Araujo, 2001). Jiménez Díaz y colaboradores (1998) aportan información sobre estudios de cultivares resistentes en otros países oleícolas.

A largo plazo, la utilización de cultivares de olivo resistentes o tolerantes, de características agronómicas y comerciales adecuadas, es posiblemente la medida de control de la Verticilosis más práctica y económicamente rentable.

1.6.6.5 Papel de las cubiertas vegetales

En las explotaciones de olivar se está llevando a cabo, en los últimos tiempos, una implantación cada vez más generalizada de sistemas de manejo de suelos basados en el establecimiento de cubiertas vegetales con distintas especies, para luchar contra el severo problema de erosión y pérdida de suelo que sufre el olivar. Sin embargo, determinadas cubiertas vegetales pueden actuar como huéspedes secundarios alternativos, manteniendo y aumentando la cantidad de inóculo del hongo en el suelo. Bejarano Alcázar y colaboradores (2004) estudiaron el papel de ciertas especies como gramíneas espontáneas y crucíferas cultivadas y silvestres frente a los dos aislados (ND y D) de *V. dahliae*. Concluyeron que las especies analizadas pueden actuar como huéspedes sintomáticos o asintomáticos de ambos patotipos en condiciones de alto potencial de inóculo en el suelo, desempeñando un papel poco relevante en la epidemiología del hongo en campo. Otros estudios sobre la susceptibilidad de ciertas malas hierbas de las familias Compositae, Cucurbitaceae y Malvaceae a *V. dahliae* y sus patotipos, resultaron en identificaciones de nuevos huéspedes de la flora arvense del olivar como son, *Aster squamatus*, *Lavatera cretica*, *L. trimestris* y *Malva nicaeensis*. Sin embargo, la especie *Ecballium elaterium*, perteneciente a la familia Cucurbitaceae, no mostró síntomas externos de Verticilosis aunque sí se produjo la recuperación del aislado en plantas inoculadas, actuando como huésped asintomático (Bejarano Alcázar y Ibrahen, 2004). Estudios de inoculación artificial de plantas típicas en el olivar de la familia de las crucíferas y de las gramíneas, espontáneas y cultivadas, revelaron a las crucíferas como resistentes o moderadamente resistentes a la infección de los dos aislados, mientras que ninguno de los aislados indujo síntomas externos en el caso de las gramíneas (Cabeza Fernández y Bejarano Alcázar, 2005).

1.6.7 Estrategias de control integrado de la Verticilosis

La VO es una enfermedad, en principio, de difícil control debido a la presencia del hongo en el árbol y en el suelo, y a una serie de características como son la prolongada supervivencia de los MC en el suelo, la posibilidad del hongo de infestar numerosas plantas cultivadas y no cultivadas, herbáceas o leñosas, la dificultad de acceder al hongo mediante fungicidas tópicos una vez que se ha producido la enfermedad, ya que crece parasíticamente en la planta confinado en el interior de la planta, y a la variabilidad patogénica de sus poblaciones (patotipos) en el suelo. Las medidas de lucha integrada adaptadas para la VO pueden ser **previas** o **posteriores** a

la plantación (Bejarano Alcázar, 2003; 2005a; Blanco López y Jiménez Díaz, 1995; Jiménez Díaz, 1997; Jiménez Díaz et al., 2003; Tjamos y Jiménez Díaz, 1998).

Las estrategias de control previas son las más eficaces para proteger los olivos de la VO, e incluyen:

1. La elección de **suelos no infectados**. Cuando se busca un nuevo emplazamiento para un olivar, no se recomienda hacerlo sobre el suelo donde, durante años, se han plantado cultivos muy susceptibles a esta enfermedad.
2. El uso de **material vegetal libre de patógeno**.

Una vez establecido el patógeno en el suelo las medidas son:

3. **Control químico**. Los tratamientos químicos efectivos son la mezcla de bromuro de metilo y cloropicrina, ya que ambos tiene un efecto sinérgico sobre un amplio espectro de patógenos del suelo, el formot, metham sodio o el metham potasio y otros químicos de acción similar. Normalmente, su uso está limitado por el coste, dificultad de aplicación, toxicidad y perjuicio medioambiental. Además existen crecientes restricciones al uso de fungicidas inducidas por el detrimento que provocan en el medio ambiente y en la salud humana, como es el caso del bromuro de metilo, cuyo uso esta siendo cada vez más cuestionado socialmente (Subbarao, 2002) lo que hace que se busquen nuevas sustancias que lo sustituyan (Hutchinson et al., 2000). En el olivar, la materia activa autorizada en la lucha de control integrado contra la VO según BOJA, Nº 88 es la solarización+metam sodio, especialmente indicado en la desinfección del surco al morir un árbol y realizar un replanteo posterior. En la lucha química contra la Verticilosis también se ha utilizado la técnica de inyecciones de diversos principios activos en el tronco del olivo (Navarro et al., 1992) lo que provoca una reducción de los síntomas. Normalmente, los más utilizados son fosety-Al y el benomilo que actúa una vez transformado en carbendazina (Gallego Álvarez, 1994; Mule et al., 2002).
4. **Solarización**. Es un proceso hidrotérmico que provoca un efecto invernadero sobre un suelo húmedo al cubrir el mismo con una capa de plástico transparente (Ashworth y Gaona, 1982). Esta medida ha resultado eficaz en la reducción de patógenos de suelo en general y de *V. dahliae* en particular, en algodonero (Blanco López et al., 1992) y en viveros de olivo (Bejarano Alcázar, 2004a). En ensayos realizados en suelos de olivar en Andalucía y naturalmente infectados por *V. dahliae*, se comprobó que la solarización redujo la cantidad de inóculo en los primeros 20cm de suelo, y que el proceso es más eficaz cuando las densidades de MC son media-altas. Un segundo proceso de solarización no mejora el efecto producido por una primera solarización en el

control de la VO (López Escudero y Blanco López., 2001). Melero Vara y colaboradores (1995) observaron que la solarización aplicada en julio y agosto durante 6-10 semanas reduce la cantidad de inóculo en suelo naturalmente infectado con el patotipo defoliante. Por otro lado, el control por solarización suele ser menos eficaz en plantas leñosas que en herbáceas, debido en parte, al inóculo residual que permanece viable después del proceso y a la dificultad de tapar alrededor de las plantas leñosas.

5. Usar **variedades resistentes**. La destrucción de los árboles afectados por la enfermedad y la plantación en las plazas libres de variedades resistentes es otro método de lucha. En casos en los que el número de olivos afectados sea muy alto se puede intercalar una nueva plantación empleando una variedad más resistente, de modo que cuando los nuevos árboles entren en producción se puedan arrancar los antiguos y desinfectar la plantación afectada.
6. **Aplicación de enmiendas orgánicas**. Es una práctica muy exitosa para el manejo de patógenos del suelo (George, 2001). Este proceso no requiere de temperaturas superiores a los 30° C, por lo que pueden aplicarse en cualquier estación del año, en áreas donde existen bajas temperatura y en cultivos extensivos. Una de las enmiendas orgánicas más efectivas es la incorporación de cultivos de cobertura. Por ejemplo, el abonado en verde con ciertas especies de leguminosas y gramíneas sin cosechar, como el pasto de sudán (*Sorghum sudanense*), el cual es efectivo para el control de la Verticilosis de la patata (Davis et al., 1990). Los restos vegetales incorporados al suelo son transformados en otros más simples por los microorganismos. Fruto de esta degradación, se forman algunas sustancias orgánicas intermedias que son tóxicas para los organismos nocivos para plantas. Por ejemplo, en la descomposición del pasto de sudán interviene la dhurrina que al degradarse en el suelo produce ácido cianhídrico que afecta a la población de nematodos fitopatógenos (Widmer, 2000) y a *V. dahliae* (Trapero y Blanco, 2001). Las crucíferas también han sido muy estudiadas por su papel como desinfectantes de suelos agrícolas. Se sabe que su descomposición en el suelo tras la incorporación origina isocianatos que ejercen una acción negativa contra *V. dahliae* (Olivier et al., 1999). Ensayos con pasto de sudan y colza (*Brassica napus*), de la familia de las crucíferas, sobre la viabilidad de los MC del aislado altamente virulento defoliante de *V. dahliae* produjeron una reducción del inóculo del hongo en el suelo que fue mucho más drástica en el caso de la colza (Bejarano Alcázar, 2004; 2005). Entre otras enmiendas eficaces para la

reducción de la viabilidad de los MC en el suelo se encuentran, la materia orgánica con alto contenido en Nitrógeno (Bailey y Lazarovits, 2003; Lazarovits, 2001) y enmiendas celulósicas con productos de alta relación C/N (polvo de confieras, residuos secos de plantas como paja, de avena, cebada y trigo). La producción de antibióticos, enzimas líticas extracelulares y otros compuestos de bajo peso molecular como los sideróforos (compuestos que se ligan al Fe) ponen de manifiesto el efecto supresor del extracto acuoso de compost de orujo de vid frente a diferentes hongos patógenos entre ellos, *V. dahliae* (Diánez et al., 2004).

7. **Rotación de cultivos.** Esta estrategia sería más recomendable en el caso de densidad baja de inóculo en el suelo, y se realizaría al menos dos años antes de la plantación. Los cultivos más apropiados son gramíneas del tipo maíz, trigo, y cebada, o liliáceas, como ajo y cebolla (Rodríguez Morcillo, 2002).

Las medidas de control posteriores a la plantación recomendada son:

8. Evitar en lo posible la **dispersión dentro y entre parcelas.**
9. **Reducir la posibilidad de incrementar la densidad del inóculo.** Para ello, se aconseja eliminar hojas y restos vegetales caídos al suelo de plantas infectadas. La utilización recientemente de cubiertas vegetales como buena práctica agrícola en el manejo del suelo del olivar, puede favorecer el uso de especies susceptibles a la Verticilosis actuando como hospedadores secundarios, favoreciendo y multiplicando las poblaciones del patógeno en las plantaciones de olivar. Como se ha indicado en el apartado de las cubiertas vegetales, tanto las gramíneas como las crucíferas son buenas opciones para utilizar como flora arvense. Otra medida, una vez hecha la plantación, es la solarización por partes dentro de la parcela o aplicada a los árboles individualmente, y las enmiendas orgánicas en fresco de crucíferas.
10. **Control biológico.** Estas medidas incluyen el uso de hongos antagonistas, especialmente la especie *Talaromices flavus*, (Nagzaam et al., 1998; Narisawa et al., 2002), micorrizas (Karagiannidis et al., 2002) y rizobacterias antagonistas (Berg et al., 2005; Tjamos et al., 2005). Es un hecho constatado que tras la solarización, incrementan algunos antagonistas como *Talaromices flavus* y *Aspergillus terreus* que podrían actuar inhibiendo la germinación de los MC o matándolos (Tjamos y Paplomatas, 1987). La micorrización ha sido utilizada para conferir cierta resistencia a *Verticillium*, sin embargo, la colonización no parece tener influencia en la resistencia a *V. dahliae* en plantones de olivo (Porrás Soriano et al., 2006). El tratamiento con los aislados del género

Pseudomonas podría contribuir a mejorar la protección de los plantones de olivo contra la Verticilosis, tanto durante la producción de ellos en vivero como en la etapa juvenil del cultivo, durante la cual es más susceptible a la enfermedad (Mercado Blanco et al., 2004).

11. **Reducir la eficacia del inóculo.** Se recomienda no regar (retirar goteros de los olivos afectados) o reducir las dosis de riego en la época en la que el olivo es más susceptible (primavera y otoño) o en los casos más graves pasar el cultivo de regadío a secano. También se recomienda la reducción del uso de abonos nitrogenados y mantener buenos niveles de potasio. Estos métodos son los menos investigados hasta el momento.

1.7 MÉTODOS DE DETECCIÓN Y DIAGNÓSTICO DE VERTICILLIUM DAHLIAE

Las especies del género *Verticillium* han sido caracterizadas sobre todo en base a la morfología y por la virulencia a sus hospedadores, aunque también se han usado patrones isoenzimáticos y estudios de incompatibilidad mediante heterocariontes (Typas, 1997). Morfológicamente, las estructuras de resistencia se usan frecuentemente como criterio de identificación, sobre todo en las especies patógenas de plantas (Barbara y Clewes, 2003). Sin embargo, la pérdida de estas estructuras en cultivo in vitro es algo común (Harris, 1998b) y, además, los criterios clásicos de taxonomía están muy limitados, especialmente en el caso de *V. dahliae*, donde la diferenciación entre los dos patotipos o razas existentes (defoliante y no defoliante) es primordial para el control eficiente de la enfermedad. Recientemente se han desarrollado diferentes técnicas moleculares para el diagnóstico y la caracterización, no sólo de *Verticillium spp.*, sino también de otros hongos, habiéndose mostrado eficaces para la caracterización de variaciones moleculares en el ADN a nivel de género, especie, subespecie, raza e incluso cepas.

La técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa), el análisis del polimorfismo de fragmentos de restricción (RFLPs), y la amplificación al azar y detección posterior de fragmentos de ADN (RAPD) son técnicas muy utilizadas y ampliamente aceptadas como fuente de información taxonómica, genética y filogenética. Los RFLPs se basan en la variación en la posición de los sitios de restricción (secuencias de corte de las enzimas de restricción) entre genotipos. Tamaños idénticos de fragmentos de restricción correspondientes a diferentes genotipos representan similitudes genéticas, mientras que fragmentos de diferentes tamaños son interpretados como diferencias genéticas. Los cebadores RAPD

amplifican mediante PCR áreas específicas distribuidas al azar por el genoma. Su pequeño tamaño y la baja temperatura de unión (36°C) a la hebra molde de ADN, aseguran que hibridan con infinidad de secuencias. Se consigue así amplificar muchos fragmentos de ADN que posteriormente se separarán en geles de agarosa para obtener los correspondientes perfiles electroforéticos, que variarán según el polimorfismo presente en el genoma de los distintos genotipos o individuos. De esta forma se tendrá una huella dactilar característica para cada muestra (Pegg y Brady, 2002).

Para el caso concreto de *Verticillium*, se han diseñado cebadores para la detección e identificación de las distintas especies del género, que también han sido usados con éxito para la identificación en planta y para la determinación de *V. dahliae*, diferenciando los aislados de diferentes hospedadores, entre ellos el olivo (Otero et al., 2004) y distinta virulencia (Heale, 2000). Por ejemplo, la utilización de las técnicas de PCR (Nazar et al., 1991) y RFLP (Carder y Barbara, 1991) ha permitido diferenciar *V. dahliae* de *V. albo-atrum*, así como detectar el alto grado de diversidad genética dentro de cada especie. Li y colaboradores (1994, 1999), usando marcadores RAPD, y analizando secuencias específicas de ADN, diseñaron cebadores específicos para la detección de *V. dahliae*.

Carder y colaboradores (1994) también registraron un par de cebadores BD19/BD22, que producían una banda específica para la especie *V. dahliae* y mostraron su utilidad con todas las muestras utilizadas, que además no amplificaron con aislados estrechamente relacionados de *V. albo-atrum*.

Los estudios de PCR y RAPD han mostrado en el caso de *V. dahliae* su utilidad para la diferenciación de los patotipos D y ND, demostrando que ambos pueden ser detectados simultáneamente en olivos infectados de forma natural (Pérez Artés et al., 2000), así como en plantones que fueron inoculados doblemente con dichos patotipos en condiciones artificiales (Mercado Blanco et al., 2001; 2002).

1.7.1 Detección en planta y caracterización de sus patotipos

Uno de los factores claves para el control de *V. dahliae* en el olivar es la detección temprana e identificación de los patotipos del hongo que predominan en la zona de cultivo, en particular por el riesgo que conlleva el defoliante, así como la detección de dichos patotipos en el material vegetal de plantación (Mercado Blanco et al., 2003a). Ambos patotipos pueden diferenciarse por características morfológicas y fisiológicas. Los aislados D producen MC alargados y redondeados en agar-agua, y metabolizan la

sanguinarina (Bejarano Alcázar et al., 1996). Por el contrario, los aislados ND forman solo MC redondeados en agar-agua y su crecimiento se inhibe en medios genéricos para el crecimiento de hongos como el PDA (patata dextrosa agar) con sanguinarina. Además, los aislados D muestran un crecimiento óptimo entre los 24 a 27°C comparado con los ND, que está entre los 21 y 24°C (Bejarano Alcázar et al., 1996). Sin embargo, la caracterización microbiológica de los aislados D y ND consume gran cantidad de tiempo y exige numerosas manipulaciones con ensayos de inoculación en planta.

Además, el asilamiento a partir de material vegetal de *V. dahliae* en medios de cultivo está muy asociado a la presencia de síntomas (Levin et al., 2003), por lo que plantas de olivos asintomáticas pueden estar infectadas por el hongo. Esto conlleva graves consecuencias en la dispersión del hongo, especialmente del patotipo D. Así que, se hace necesario un método de diagnóstico adecuado, preciso y rápido. En este sentido, los métodos de diagnóstico basados en la técnica de PCR han superado a los métodos de asilamiento tradicionales en medios de cultivo (Mercado Blanco et al., 2003 a; Morera et al., 2005). Se han diseñado cebadores de PCR para diferenciar entre ambos patotipos (D y ND) a partir de ADN fúngico de aislados procedentes de algodón y olivo de España y otros países (Korolev et al., 2001; Pérez Artés et al., 2000). El método original requería el aislamiento microbiológico previo del hongo patógeno. Posteriormente, y basado en el método original, se ha puesto a punto una técnica de nested-PCR aplicable para la detección temprana del hongo en planta, utilizando ADN total extraído de la planta infectada. Mercado Blanco y colaboradores (2001) diseñaron un par de cebadores (NDf/NDr) que produce un amplicón de 1.410pb y un par de cebadores internos (IND2f/IND2r ó INDf/NDr) que originan un amplicón de 824 y 1.163pb respectivamente, específicos para el patotipo no defoliante. Igualmente, para el patotipo defoliante, se desarrollaron las parejas Dr/Df y INTDf/INTDr que originan amplicones de 523pb y 423pb en la primera y segunda reacción respectivamente (Mercado Blanco et al., 2002).

Con el fin de mejorar la metodología, estos autores han conseguido la caracterización simultánea de *V. dahliae* y de sus dos patotipos mediante una sola reacción de PCR (Mercado Blanco et al., 2003). Para ello usaron combinaciones de tres cebadores en las proporciones y condiciones de reacción de PCR adecuadas. Estos son el par DB22/BD19 específico de la especie, diseñado por Carder y colaboradores (1994), además de otro específico para el patotipo defoliante denominado espedef01. Los resultados para ADN de aislados defoliantes resultan en un patrón electroforético con dos amplicones de 539pb (DB19/DB22) y de 334pb

(DB19/espdef01). Por el contrario, para ADN de aislados no defoliantes se obtiene una única banda de 523 pb (DB19/DB22).

Este sistema permite también una mejora en el método de detección del patógeno en planta, como el uso de un único conjunto de cebadores en un análisis de PCR dúplex y secuencial.

1.7.2 Detección en el suelo

El conocimiento de la densidad de inóculo de *V. dahliae* en el suelo de plantaciones de olivar es una información de indudable interés para la estimación de los niveles aproximados de riesgo y para el diseño de estrategias de lucha eficaces contra la enfermedad. Por esta razón, se ha desarrollado una gran cantidad de métodos de detección en suelo, que comenzaron en los años 60 y que han sufrido sucesivas modificaciones sin que ninguno de ellos resulte ser del todo satisfactorio. Todos estas metodologías tienen en común la utilización de diluciones seriadas de suelo como fuente de inóculo en medio de cultivo semi-selectivo, sobre el cual *V. dahliae* produce colonias con MC, de manera que el número colonias referida a la cantidad de suelo sembrado estima la densidad de inóculo (MC/gramo de suelo seco). Hasta ahora, se han desarrollado numerosas técnicas y se han descrito más de 20 medios semi-selectivos para *V. dahliae*. Sin embargo, aún no se han estandarizado los medios semiselectivos ni las distintas variantes del método de recuento en placa, ya que se observó que existe interacción suelo-método, causada probablemente por diferentes comunidades microbianas que actúan según el medio semiselectivo elegido (Goud y Termorshuizen, 2003; López Escudero et al., 2003; Termorshuizen et al., 1998). Esta dependencia de las características del suelo genera la pregunta de si será posible una estandarización de métodos de recuento en placa y medios semiselectivos a nivel mundial. Mpofo y Hall (2003) compararon los medios semiselectivos más utilizados mundialmente determinando que el medio Soil Pectate Tergitol Agar (SPT) es el más eficiente para contar ME de un suelo de Canadá.

Sin embargo, estos métodos solo permiten el recuento de colonias, ya que normalmente, no se pueden obtener cultivos puros a partir de ellas debido al exceso de contaminantes. Por otro lado, los métodos tradicionales de siembra en placa consumen mucho tiempo, son inconsistentes y los aislamientos microbiológicos no proporcionan información sobre la naturaleza de los patotipos que están presentes en el suelo. Así que, nuevamente ha sido necesario el desarrollo de métodos de detección y cuantificación de *V. dahliae* en el suelo basándose en técnicas moleculares mediante PCR. Pérez-Artés y colaboradores (2005) han puesto a punto la metodología para la

extracción de ADN del suelo y PCR secuencial, pudiendo detectar un mínimo de 10 MC por gramo de suelo. Para ello, utilizaron parejas de cebadores que ya se habían usado con éxito en la detección en planta de los diferentes patotipos del hongo.

1.8 SISTEMAS DE INFORMACIÓN GEOGRÁFICA (SIG)

1.8.1 Concepto

El término SIG es el acrónimo de Sistema de Información Geográfica (en inglés, GIS: Geographic Information System). Un SIG es un sistema donde cinco componentes son necesarios para obtener los resultados deseados. Estos componentes son: los equipos electrónicos (hardware), una programación adecuada (software), una serie de datos espaciales (información geográfica) y con los que realizar análisis complejos siguiendo los criterios impuestos por el operador (Figura 19).

Por ser tan versátiles los sistemas de información geográfica, su campo de aplicación es muy amplio, con posibilidad de utilización en la mayoría de las actividades que tengan un componente espacial. La profunda revolución que han provocado las nuevas tecnologías ha incidido de manera decisiva en su evolución. A lo largo del tiempo, el peso de cada uno de los elementos dentro de un proyecto SIG ha ido cambiando, mostrando una clara tendencia de tal forma que los datos geográficos se hacen cada vez más necesarios. Así, hoy día, el condicionante principal lo constituye la disponibilidad de datos geográficos del territorio a estudiar, mientras que hace diez años lo era la disponibilidad de ordenadores potentes que permitieran afrontar los procesos de cálculo involucrados en el análisis de datos territoriales.



Figura 19. Componentes de un sistema SIG

1.8.2 Base de datos SIG

Una amplia base geográfica de datos es la parte fundamental de un SIG que debe estar organizada adecuadamente y mantenerse bien documentada. En una base de datos SIG, los objetos del mundo real se representan en un mundo digital. Los datos sobre los objetos del mundo real se almacenan en una base de datos constituida por la localización geográfica de los objetos (coordenadas geográficas) y la información de sus atributos. Mientras otros sistemas de información almacenan sólo datos alfanuméricos, las bases de datos de un SIG han de contener además la delimitación espacial, es decir coordenadas geográficas de cada uno de los objetos geográficos. Una característica importante de estas bases de datos SIG es que las entidades geográficas georreferenciadas están asociadas de alguna manera con la información incluida en sus atributos. Por ejemplo, en el caso particular de una parcela catastral de olivar, tiene su correspondiente forma geométrica, plasmada en un plano, pero también tiene otros datos asociados como el propietario, la superficie, el número de olivos, el régimen de cultivo, la variedad de los olivos, etc. Esta capacidad de asociación de bases de datos temáticas, junto con la descripción espacial precisa de objetos geográficos y las relaciones entre los mismos (topología), es lo que diferencia a un SIG de otros sistemas informáticos de gestión de información. De esta forma, señalando un objeto se conocen sus atributos e, inversamente, preguntando por un registro de la base de datos se puede saber su localización en el espacio (Figura 20).

1.8.3 Organización de los datos en un SIG

Un SIG organiza y almacena la información sobre el mundo como una colección de capas temáticas conectadas geográficamente. Estas capas forman parte de un conjunto de datos geográficos de un estudio. Cada capa representa "un tema" distinto y contiene entidades que poseen atributos similares, localizadas en la misma extensión geográfica. El SIG separa la información en diferentes capas temáticas y las almacena independientemente, permitiendo trabajar con ellas de manera rápida y sencilla, y facilitando al profesional la posibilidad de relacionar la información existente a través de la topología de los objetos, con el fin de generar otra nueva capa que no se podría conseguir de otra forma, es decir, mediante la topología podemos obtener otra capa con la información deseada. Este concepto tan simple pero sumamente poderoso y versátil tiene una gran utilidad para solucionar muchos problemas del mundo real (Figura 21).

Los objetos geográficos se pueden representar usando un modelo raster o un modelo vectorial. El primero (Figura 22 A) representa las entidades geográficas usando

celdillas o pixels, mientras que el modelo vectorial representa las entidades usando puntos, líneas y polígonos (Figura 2 B). Los SIG permiten explorar distribución espacial de plagas, cultivos y patógenos, así como estudiar las interacciones que se desarrollan entre ellos. Un ejemplo es el estudio de los patrones espaciales de dispersión del mildiu de la lechuga en el valle de Salinas (Van Bruggen et al., 2001) o el patrón de distribución espacial de las enfermedades bacterianas que afectan al avellano y su relación con ciertas variables ambientales (Fabi et al., 2004).

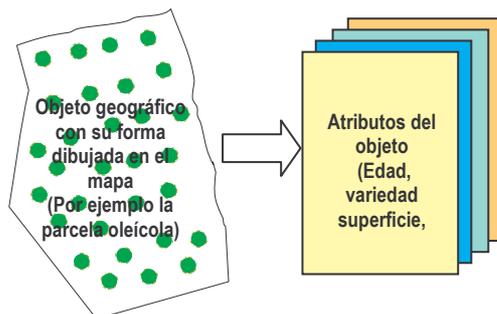


Figura 20. Base de datos de un SIG

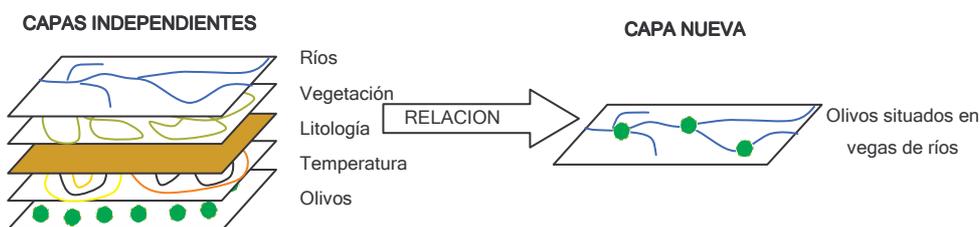
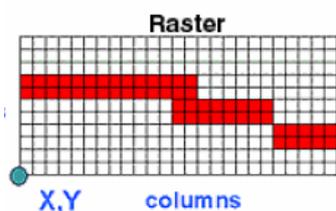


Figura 21. Organización de los datos de un SIG

A)



B)

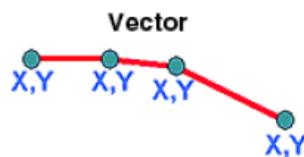


Figura 22. Modelo Raster A) y modelo Vectorial B)

Material y Métodos

2.1 TÉCNICAS DE DISEÑO DE MUESTREO Y DE PROCEDIMIENTO EN CAMPO

2.1.1 Diseño experimental del muestreo

El olivar granadino constituye un sistema agrario singular que se compone de grandes unidades territoriales con rasgos distintivos propios (Guzmán, 2004; Licerias, 1993). Conjuntamente, en Andalucía la Verticilosis afecta en particular y severamente a nuevas plantaciones de regadío (Sánchez-Hernández et al., 1998). Por estas circunstancias, el diseño del muestreo se ha realizado teniendo en cuenta estas dos variables, por un lado la distribución natural no homogénea del olivar entre las diferentes comarcas y municipios granadinos, y por otro, la relación de la Verticilosis con el olivar en regadío.

En una primera etapa, en el diseño de muestreo se ha considerado como variable objeto de estudio la proporción de explotaciones olivareras con afectación por Verticilosis de la provincia de Granada. El diseño de muestreo es estratificado con afijación proporcional a superficie olivarera de cada comarca y al tipo de cultivo secano-regadío (estrato cruzado). En una segunda etapa, se asignan al azar las unidades muestrales para los municipios mediante un muestreo aleatorio proporcional a la superficie de cultivo de cada municipio dentro de su estrato cruzado.

Los datos sobre la superficie de olivar en hectáreas y el régimen de cultivo en las que se ha basado este diseño proceden de las Declaraciones de Olivar correspondientes a la campaña 2000/2001 y fueron facilitadas por el Servicio de Estudios y Estadística del Sistema Integrado de la Empresa Pública Desarrollo Agrario y Pesquero (DAP) de la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía.

El esfuerzo de muestreo para el estudio fue de 998 explotaciones. En el caso más desfavorable $p=q=50\%$, y con un tamaño de la población (número de explotaciones olivareras) de 129.962, el error asociado a la estimación de la proporción es inferior al 3,1%, con una confianza del 95%. Al determinar el tamaño de muestra y el margen de error, suponemos que “p” es la proporción de la población que se pretende estimar, que en este caso se corresponde con las parcelas oleícolas con Verticilosis, por lo tanto “ $q = 100-p$ ”. Dado que son precisamente esas proporciones “p” y “q” las que se pretende estimar, y no se dispone, de información sobre las mismas, se ha partido desde lo que estadísticamente se expresa como el caso más desfavorable en el que el total de la población se distribuye exactamente al 50% ($p=q=50$). La probabilidad de que se de un fenómeno o su contrario, en este caso positivo y negativo para Verticilosis, son iguales; cualquier otra probabilidad, mayor o menor, nos permitiría

unos tamaños de muestra más reducidos. Para los cálculos de muestreo se ha utilizado el programa informático Microsoft EXCEL 2002.

El número de explotaciones finalmente investigadas durante el periodo 2002-2005, fue de 873, con un error de muestreo asociado inferior al 3,3%. Los repartos por comarcas son los que se muestran en la Figura 23. En la Tabla 10 se presenta un ejemplo de las unidades muestrales obtenidas en la segunda etapa para dos municipios en particular (Loja y Colomera). Por ejemplo, para el municipio de Loja situado dentro de la comarca de la Vega, la segunda más importante en olivar, para unas 14.300 ha aproximadamente de cultivo en seco, se corresponde con unas 74 parcelas oleícolas a muestrear.

Tabla 10. Ejemplo del diseño de muestreo en dos municipios en la provincia de Granada

COMARCA LA VEGA				COMARCA NORTE			
MUNICIPIO: LOJA				MUNICIPIO: COLOMERA			
(ha) olivar		Nº parcelas a muestrear		(ha) olivar		Nº parcelas a muestrear	
Secano	Regadío	Secano	Regadío	Secano	Regadío	Secano	Regadío
14.300,6	597,1	74	3	5.516,1	611,2	30	2

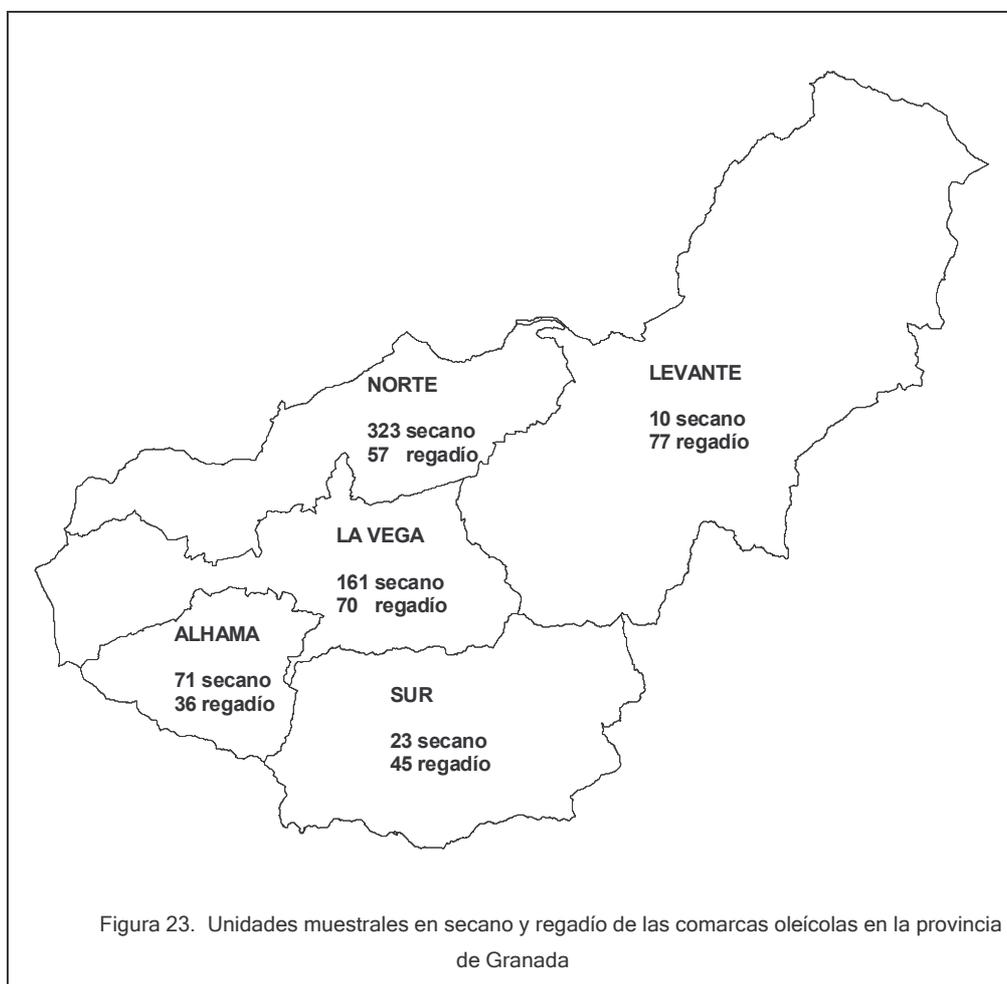
Tabla 11: Superficie de olivar prospectada en la provincia de Granada

COMARCAS	REGIMEN DE CULTIVO		TOTAL
	SECANO	REGADIO	
	Superficie (ha)	(Superficie (ha))	Superficie (ha)
Norte	1.092,5	255,6	1.348,1
Vega	989,5	899,5	1.889,0
Alhama	238,1	335,4	573,4
Sur	19,3	63,6	82,9
Levante	13,7	180,2	193,9
TOTAL	2.353,0	1.734,2	4.087,2

Tabla 12: Número de olivos prospectados en la provincia de Granada

COMARCAS	REGIMEN DE CULTIVO		TOTAL
	SECANO	REGADIO	
	Nº olivos	Nº olivos	Nº olivos
Norte	137.120	34.618	171.738
Vega	130.682	113.971	244.653
Alhama	33.237	44.322	77.559
Sur	2.403	10.268	12.671
Levante	2.093	19.189	21.282
TOTAL	305.535	222.368	527.903

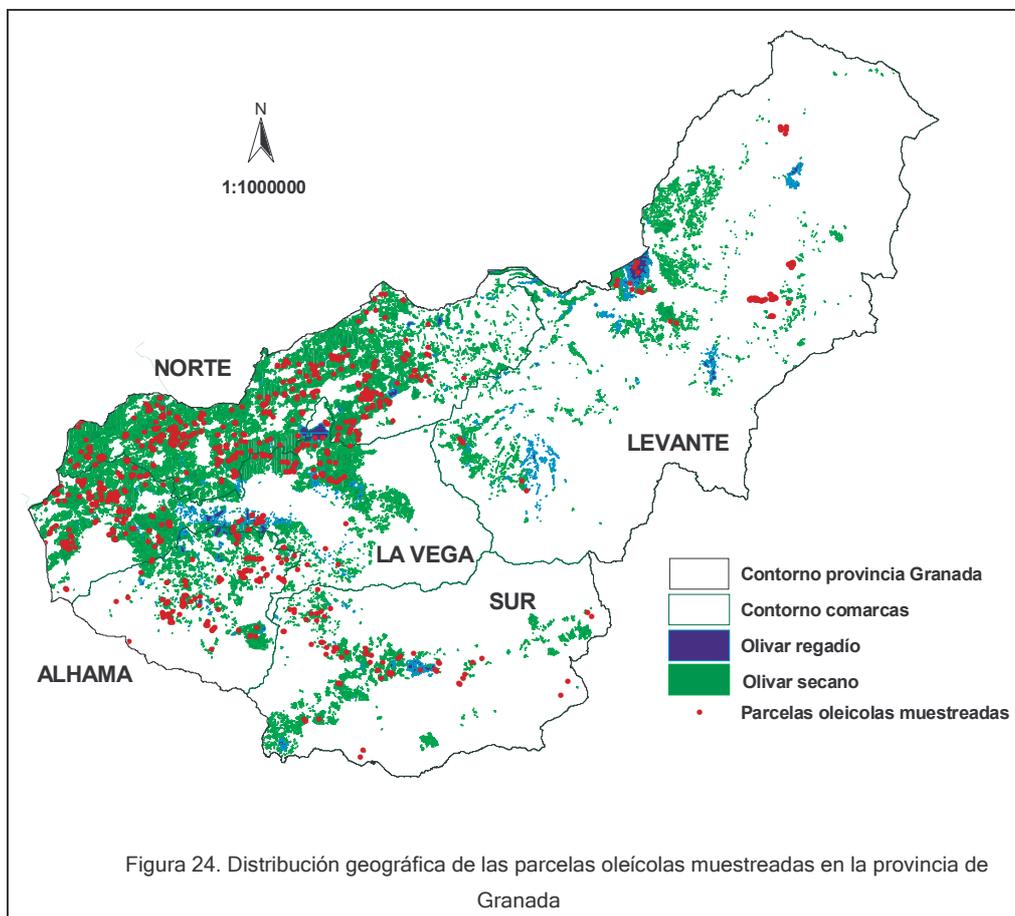
La distribución geográfica de las plantaciones prospectadas fue la que se muestra en la Figura 24. Las 873 parcelas se correspondieron con 4.087,2 ha (Tabla 11) lo que supone un 2,3% de la superficie del olivar provincial con 174.682,6 ha. Esta superficie, cubre un total de 527.903 olivos, lo que significa un 2,4% de olivos del total provincial que se cuantifican en 22.500.000 (Tabla 12).



2.1.2 Unidad de muestreo

La unidad de muestreo tomada en este estudio ha sido la parcela oleícola, que se define como una superficie homogénea y continuada de cultivo de olivar, dentro de una misma linde, variedad, marco de plantación y régimen de cultivo, secano o regadío (CAP, 2002b). Las parcelas quedan incluidas dentro de polígonos catastrales que a su vez componen los términos municipales (Figura 25). Una vez que las parcelas eran identificadas, se georreferenciaban independientemente de cual fuera su superficie. Para ello, cada una de las parcelas oleícolas incluidas en el muestreo se representó

con un punto ubicado por las coordenadas geográficas UTM (Universal Transverse Mercator) de su centroide. UTM es el sistema de proyección utilizado en España en la mayor parte de la cartografía oficial actual. Las coordenadas se obtuvieron del SIG oleícola o SIG-PAC (véase Pág. 69).

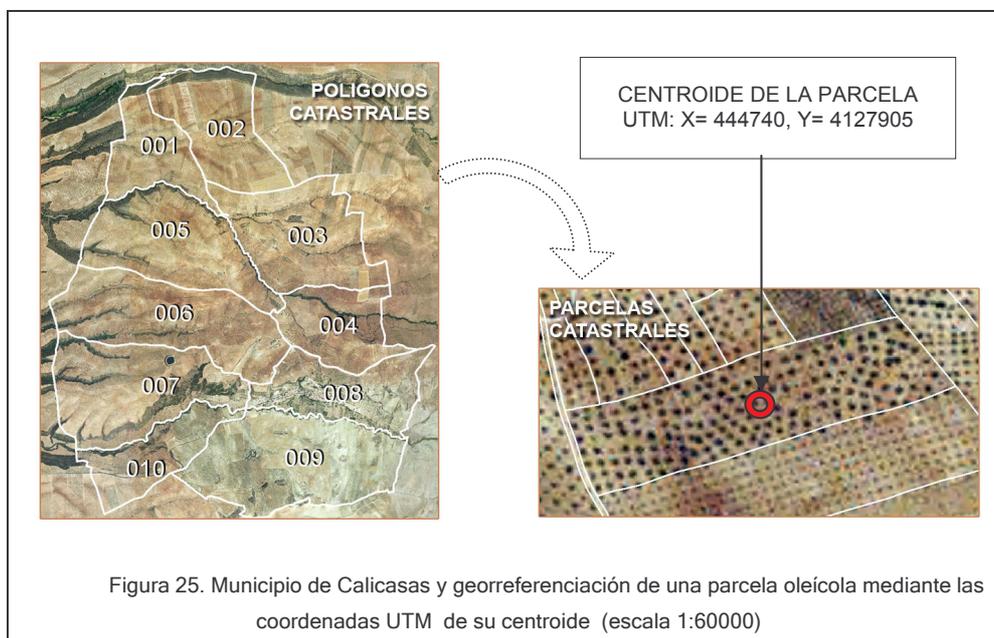


2.1.3 Encuestas, formulario y recopilación de datos

A partir del diseño estadístico del muestreo creado, se seleccionó una muestra aleatoria de agricultores basándose en la información procedente de dos fuentes, las bases de datos de las Organizaciones de Productores Reconocidos de Aceite de oliva (OPRs) de Granada y en su defecto, de las cooperativas agrícolas asociadas al sector oleícola en Granada.

La información necesaria correspondiente a las parcelas oleícolas se recopiló mediante una encuesta normalizada, utilizando un formulario *ad hoc*, a partir de una amplia muestra aleatoria de los propietarios, con entrevistas directas a los mismos a través del teléfono o correo y con la ayuda del personal técnico profesional de las

cooperativas agrícolas y/o técnicos especialistas en Sanidad Vegetal de las ATRIAS (Agrupaciones para el Tratamiento Integrado en el Olivar). Cada encuesta realizada quedaba registrada en un formulario (Figura 26) donde se indican los datos correspondientes a una parcela oleícola de este estudio.



Los datos de interés, concernientes a la superficie y número de olivos de cada parcela, se obtuvieron del Sistema Integrado de Gestión (SIG) oleícola disponible en la página Web del Ministerio de Agricultura y Pesca: http://w3.mapya.es/dinatierra_v3/. El SIG Oleícola puede ser aprovechado para otros propósitos como el que es objeto de este estudio, aunque fue creado sólo para fines de control del olivar, y se limita a mostrar ortofotos (en formato raster) y datos catastrales sobre superficie y número de olivos (en formato vectorial), pero limitado a provincias que tengan olivar.

La información se completó posteriormente con la aparición del SIG-PAC, que es un Sistema de Información Geográfica nuevo, utilizado desde el 1 de enero de 2005, basado en el SIG Oleícola dirigido al control de las ayudas agrícolas de la PAC, (Política Agraria Común). Tiene como objetivo actuar de registro gráfico de la realidad agrícola de todo el territorio común. El SIG-PAC esta confeccionado a partir de una fotografía aérea a escala 1:5.000, con los planos del catastro de rústica superpuestos. A esta base gráfica se ha añadido la información necesaria para identificar cada parcela, como superficie, usos de la tierra, régimen de explotación, etc. Al SIG-PAC se accede a través del visor cuya página Web del Ministerio de Agricultura y Pesca es <http://www.mapa.es/es/sig/pags/sigpac/intro.htm>. En este estudio, el SIG-PAC se ha utilizado principalmente para completar en los formularios la información relativa a los

usos colindantes del suelo y los usos intercalares del mismo de cada parcela oleícola. En la Figura 27 se muestra un ejemplo de una parcela catastral de este estudio con la información de usos recogida por el SIG-PAC.

Los datos concernientes a la variedad predominante en la parcela oleícola y a la edad de los olivos son los correspondientes a la campaña 2000/2001, y fueron suministrados por el “Modelo de Explotaciones Olivareras de la Unidad de Prospectiva de la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía”.

El resto de la información agronómica para cada parcela oleícola se obtuvo, hasta donde fue posible, de los propietarios, con especial insistencia en la relacionada con la Verticilosis del olivo, como por ejemplo, el uso anterior del suelo y la procedencia del material vegetal.

2.1.4 Recogida, preparación y conservación de las muestras biológicas

El diagnóstico preliminar se efectuó en base a las encuestas. Solamente cuando los agricultores manifestaron que su olivar tenía algún tipo de patología de cualquier naturaleza, o en el caso de que la información derivada del formulario hiciera sospechar la presencia de Verticilosis, se procedió a la confirmación del diagnóstico *in situ* y a la posterior recogida de muestras para el aislamiento del patógeno en el laboratorio a partir del tejido vascular afectado (Sánchez-Hernández et al., 1998).

Las prospecciones de campo se realizaron desde el otoño de 2002 hasta la primavera de 2005. El aislamiento de *V. dahliae* en medio de cultivo a partir del material vegetal está asociado a la presencia de síntomas de la enfermedad en los árboles. Los periodos de muestreo se restringieron a la primavera y al otoño que es cuando la aparición de los indicios foliares son más severos y las condiciones climatológicas de temperatura y humedad favorecen el aislamiento (Morera et al., 2005; Levin et al., 2003; Ortega et al., 2004; Reyes et al., 2004).

Cada una de las parcelas visitadas se marcó con sus correspondientes coordenadas UTM para la correcta localización geográfica posterior y poder llevar el seguimiento adecuado. Para tal propósito fue utilizado uno de los dispositivos GPS al uso. Para un buen reconocimiento de la enfermedad en el campo se procedió de la siguiente forma (Bustamante y Rivas, 1998; Shurtleff y Averre, 1999):

- Se inspeccionó el campo y sus alrededores. Se dio importancia a aspectos como el historial de la propiedad y del terreno adyacente, así como las diferentes especies de plantas afectadas.

PROPIETARIO *Pedro Pérez Garrido* fecha *23 mayo 2003* ,
 Localidad: *ARENAS DEL REY* Coordenadas UTM: X: *419901* Y: *4087486*

CARACTERISTICAS DE LA FINCA			
Nombre/paraje: <i>Játar</i>	Pol. Catastral: <i>18</i>	Par. Catastral: <i>175</i>	SUP: <i>15</i> <i>ha</i>
SECANO/REGADIO: <i>secano</i>	VARIEDAD: <i>picual y hojiblanca</i>	EDAD: <i>35-10-6</i>	Nº ARB: <i>1800</i>
<input type="checkbox"/> pendiente (llano) <input type="checkbox"/> encharcamiento <input type="checkbox"/> escorrentia <input type="checkbox"/> laboreo : maquinaria propia/ajena	<input type="checkbox"/> cubiertas vegetales <input type="checkbox"/> olivar ecologico Suelo/textura <i>Suelo arcilloso</i>	Observaciones: <i>aproximadamente un 25% de los árboles tienen 6 años, cubierta vegetal espontanea margaritas, amapolas, verdulaga y cardos</i>	
CARACTERISTICAS DE LA PLANTACION			
Uso anterior: <i>FORESTAL</i> Cultivos intercalares Si: <i>almendro (8 ha) Forestal (36ha) cereal(0,5ha)</i> Cultivos colindantes <i>cereal, almendro, pastos arbustivos y forestal</i>			
PROCEDENCIA DE LA PLANTA			
Propia: <i>otra finca</i> vivero Ajena: <i>de otra finca/vivero</i>			
PRACTICAS CULTURALES			
--Poda Anual/bianual/trianual fecha: <i>ene-feb</i> herramientas: <i>propia</i> /contratada --Riego: <i>secano</i> duración frecuencia dosis procedencia agua --Abono suelo --Abono foliar: <i>abofol, zetaminol y stimufol en abril, ago y oct respectivamente: 400gr/1#l. tres tratamientos</i> --Practicas fitosanitarias: <i>herbicida touchdown una aplicación en abril, insecticida karate king tres aplicaciones en jul, ago, oct.</i>			
PROBLEMA			
<input type="checkbox"/> CLOROSIS <input type="checkbox"/> MOMIFICADO FLORES <input type="checkbox"/> MOMIFICADO FRUTO <input type="checkbox"/> COLORACION <input type="checkbox"/> DEFOLIACION <input type="checkbox"/> HOJAS ABARQUILLADAS <input type="checkbox"/> PODREDUMBRE RADICULAR <input type="checkbox"/> MARCHITEZ	Nº ÁRBOLES AFECTADOS. <i>ninguno</i> SEVERIDAD: <i>hojas tallos/planta entera/ raíces/sectores</i> DISTRIBUCION: <i>general/aleatoria/borde/rodal/</i> PRIMEROS SINTOMAS OBSERVACIONES <i>no presenta sintomatología</i>		

Figura 26. Formulario de recogida de datos

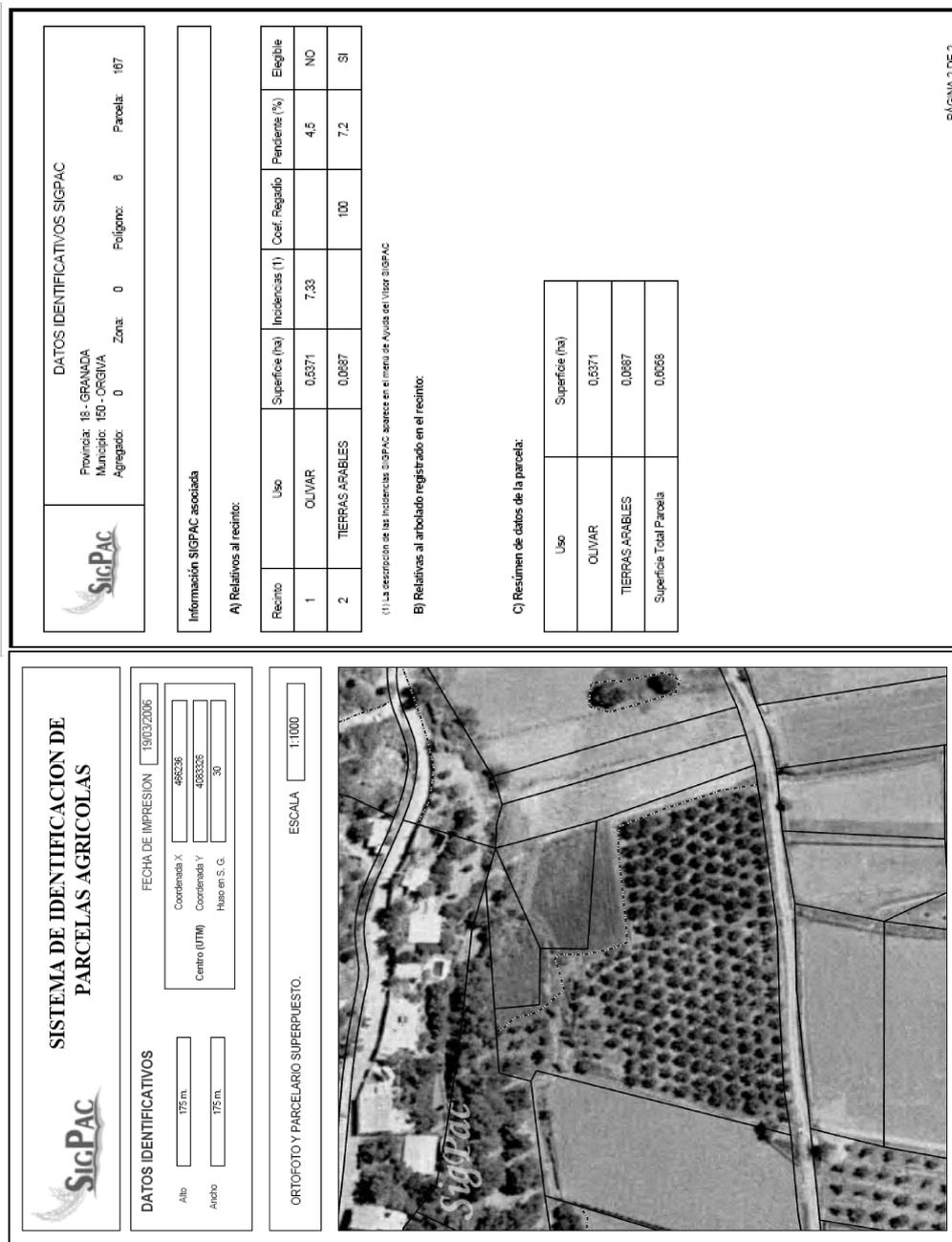


Figura 27. Imagen del SIG-PAC con la información recogida para una parcela catastral

- Se buscaron los patrones de distribución geográfica en campo de los daños, por si estos eran o no uniformes. Es importante observar si el problema está asociado con ciertas áreas, o por el contrario, se distribuía en focos bien separados dentro de una misma parcela, en cuyo caso se tomaron muestras

de cada uno de ellos. La razón de actuar así es porque pueden confluir diferentes patologías dentro de una misma parcela.

- Se identificaron los olivos enfermos con precisión y se contabilizaron o se estimaron el número de plantas afectadas con lo mismos síntomas.
- Se examinaron las plantas individuales al detalle. Se identificaba la parte de la planta afectada mirando las raíces y la parte aérea de la planta. En el caso de las raíces, se observó el color de las mismas ya que con frecuencia los colores negros reflejan suelos muy húmedos o la existencia de organismos que pudren las raíces. En el caso de la parte aérea se examinaron las ramas y el tronco en busca de heridas causadas por el clima (heladas), roedores o factores mecánicos, o producidas por fitófagos como Euzophera o Barrenillos.

A continuación se evaluaba la enfermedad mediante la **SEVERIDAD** de los síntomas, entendida como la porción de tejido de planta afectada expresado en porcentaje de área total. La severidad de los síntomas se midió en una escala (0-4) basada en otras utilizadas por distintos autores (Mercado Blanco et al., 2004; López Escudero et al, 2004; Rodríguez Jurado, 1993) para la evaluación de daños en olivo de acuerdo con el porcentaje de hojas y brotes afectados de forma que:

- Nivel 0: Ausencia de síntomas
- Nivel 1: Brotes muertos y ligera defoliación entre un 1-33% de la parte aérea
- Nivel 2: Brotes y ramas muertas entre un 34-66% de la parte aérea
- Nivel 3: Brotes y ramas muertas en un 67-100% de la parte aérea
- Nivel 4: Planta muerta

Una vez terminada la examinación en campo, se procedía a la toma de muestras de las partes áreas afectadas. Siempre que fue posible, se seleccionaron al menos entre 4 ó 6 olivos con síntomas foliares característicos de Verticilosis. De cada árbol se tomaron unas 10 muestras de las zonas que presentaban síntomas de los diferentes estados de desarrollo de la enfermedad o en distintos estado de ataque. Las muestras consistieron en trozos de 30 a 40 cm de longitud de ramas de 0,5 a 2,0 cm de grosor y con partes que aún estaban sanas (verdes) ya que ofrecen mejor calidad de muestras para un adecuado diagnóstico. Las ramas con tejidos muertos (necrosados) se rechazaron ya que, esencialmente, son una fuente de microorganismos saprofitos que dificultan en gran medida la determinación del patógeno primario. Las muestras de cada árbol se guardaron etiquetadas en bolsas de plástico. Las tijeras de podar se esterilizaban después de la toma de cada muestra, con solución desinfectante (Arnil cloruro de benzalcoino 1: 1000), o con alcohol etílico con el fin de evitar

contaminaciones. Las muestras, en las bolsas sin cerrar herméticamente para evitar podredumbre de los tejidos, se almacenaban, previa eliminación de las hojas, a 4°C hasta su posterior análisis. Todas las muestras se procesaron en un periodo máximo de 15 días tras su recolección. En cualquier caso, siempre se procuró que el tiempo transcurrido entre la toma de muestras y su análisis en el laboratorio fuera lo más corto posible (Stiles et al., <http://edis.ifas.ufl.edu>).

Toda la información obtenida sobre la parcela mediante la inspección en campo se anotó, junto con la encuesta realizada al agricultor, en el formulario.

2.2 TÉCNICAS DE LABORATORIO

2.2.1 Medios de cultivo

Una vez preparados los distintos medios de cultivo se esterilizaron en autoclave por calor húmedo a 120°C y a una atmósfera de presión durante 15 min. Para eliminar bacterias contaminantes que impiden o dificultan el aislamiento, fue necesaria la adición al medio, una vez esterilizado, de aureomicina a la concentración final de 30 mg por L. La solución del antibiótico se preparó 100 veces concentrada en agua destilada y se esterilizó por filtración, con filtro Millipore de 0,2 µm de tamaño de poro.

- Medio mínimo Agar- agua con aureomicina (AAau).

Agar (cultimed) 20 g por L

Aureomicina 30 mg por L

Los medios mínimos (MM) como por ejemplo agar-agua (AA), son utilizados normalmente en el aislamiento de *V. dahliae* porque el propio tejido vegetal enfermo a partir del cual se quiere realizar el aislamiento puede soportar el crecimiento del hongo. Los MMs tienen la ventaja, por otra parte, de ser adecuados para la identificación de hongos al dar lugar a menudo a un desarrollo de micelio poco tupido, limitar la multiplicación de bacterias contaminantes e inducir al hongo a entrar en fase reproductiva. Permite, además, la caracterización y el crecimiento óptimo del hongo al mismo tiempo que evitan la degradación excesiva *in vitro* de los aislados.

- Medio PDA (Patata dextrosa agar) con aureomicina (PDAau) (Bejarano et al., 1996).

PDA (cultimed) 39 g por L

Aureomicina 30 mg por L

El medio PDA se compone de (g/L):

Glucosa	20
Infusión de patata (a partir de 200 g)	4
Agar	15
A pH: 5,6 ± 0,2	

Se han descrito varios medios de cultivo para el crecimiento in vitro de *V. dahliae*, tales como PDA (patata dextrosa agar), MEA (extracto de malta agar) o Czapek's Dox (Harris, 1998 b). En este estudio se utilizó PDAau como medio para la conservación del patógeno a largo plazo y para la consecución de cultivos puros.

- PDB (Potato Dextrose Broth)

PDB (SIGMA®) 24 g por L

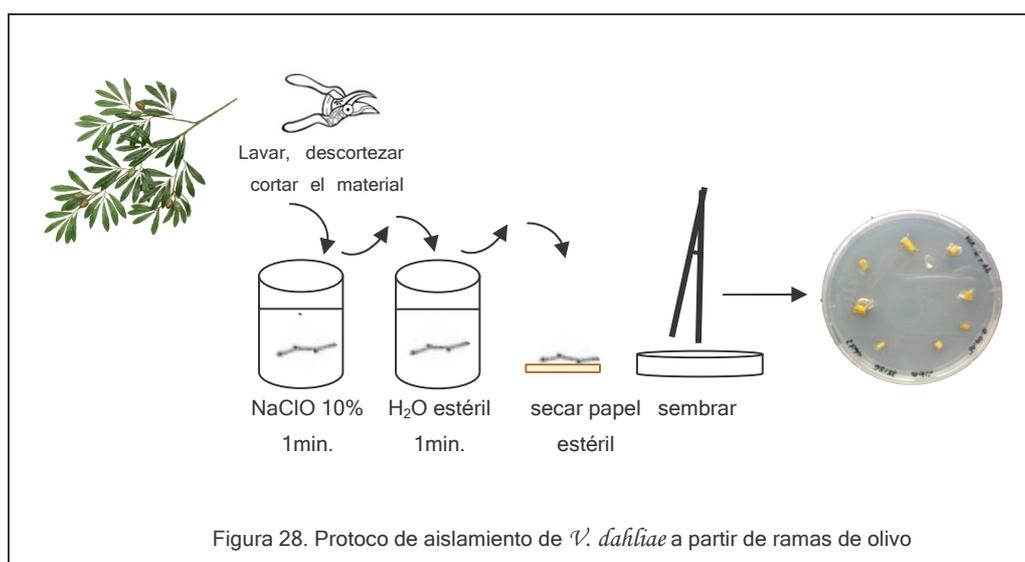
Se ha utilizado para los cultivos líquidos del hongo.

2.2.2 Protocolo de aislamiento de *Verticillium dahliae*

El procedimiento realizado para el aislamiento de *V. dahliae* a partir de ramas de olivo es el comúnmente usado para el aislamiento de hongos endófitos a partir de material vegetal (Luigi, 1995), con algunas modificaciones basadas en trabajos previos que describen el aislamiento de este patógeno en algodón (Bejarano Alcázar et al., 1996) y consistente en los siguientes pasos sucesivos (Figura 28):

- Lavado. Se seleccionaron 6 ramillas de cada árbol y se lavaron cuidadosamente bajo chorro de agua con un estropajo, atendiendo a las zonas de dobleces y hendiduras. Posteriormente, el material se introdujo en recipientes de plásticos etiquetados, dejándose lavar durante cinco minutos más. En cada caso, siempre se tuvo la precaución de usar un trozo de estropajo por muestra y los recipientes de plástico se lavaron y desinfectaron con solución desinfectante (Armil cloruro de benzalconio 1:1000) antes de ser nuevamente reutilizados para albergar una nueva muestra. A continuación, las ramillas se descortezaron con escalpelo y se cortaron en pequeños trozos de aproximadamente 0,5 cm de grosor a partir del borde de los síntomas y cerca del margen de avance, donde el crecimiento del hongo es aparentemente más activo.
- Desinfección. Trabajando siempre en cámara de flujo laminar, la desinfección de los trozos cortados se realizó por inmersión en hipoclorito sódico (NaClO) al 10% en agua durante 1 min. Terminada la desinfección, los trozos se enjuagaron con agua destilada estéril y se secaron en papel de filtro estéril.

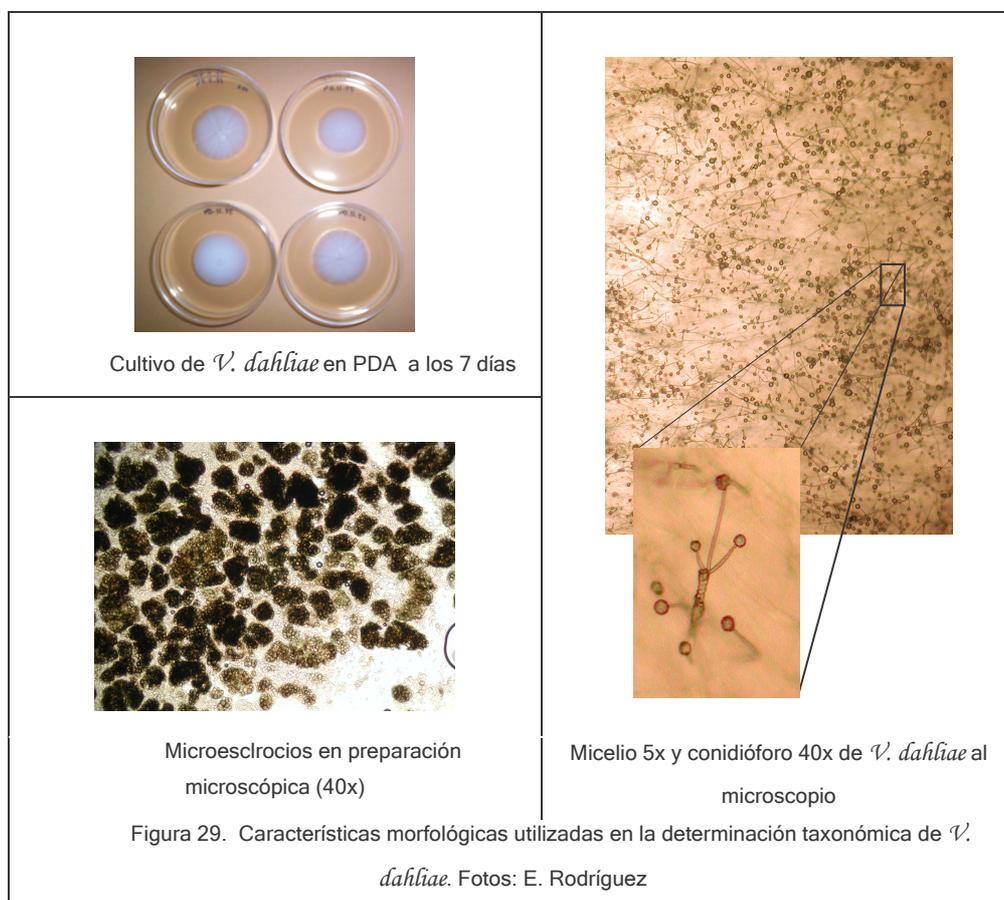
- **Siembra e incubación.** El material vegetal estéril y seco se colocó en placas Petri con AAau a razón de ocho siembras equidistantes por placa con un total de tres placas por árbol. Las placas se incubaron en oscuridad a 25°C (Bejarano et al., 1996). Si a los 5-7 días había un crecimiento aceptable, se procedía a la identificación de acuerdo con las características morfológicas del hongo (Hawksworth y Talboys, 1970) y se obtuvieron nuevos cultivos del patógeno mediante resiembra en una nueva placa de AAau para conseguir colonias aisladas. Las placas se mantuvieron en estufa por un periodo máximo de un mes por si aparecía crecimiento fúngico.



2.2.3 Identificación del patógeno

Las colonias de *V. dahliae* fueron identificadas en las placas bajo lupa y en preparaciones microscópicas mediante la observación de las típicas estructuras vegetativas y reproductivas producidas en el medio de cultivo. El cultivo puro de *V. dahliae* se identifica por tener un micelio algodonoso blanco, formando conidióforos en verticilos y la aparición posterior de microesclerocios oscuros de morfología subglobulosa ligeramente alargada (Figura 29). La tinción del hongo se hizo con el fin de facilitar las observaciones y distinguir con mayor claridad las características estructurales que sirven para su identificación. Para ello se colocó el material fúngico a observar en un portaobjeto y se cubrió con una gota de fucsina ácida en agua destilada al 1%.

Una vez aislado e identificado el patógeno, se siguió un procedimiento de purificación, conservación y caracterización del patotipo que se describe en los siguientes apartados y que se resume en la Figura 30.



2.2.4 Cultivos monospóricos

Con el fin obtener cultivos puros de *V. dahliae*, y su posterior conservación a largo plazo se preparó cultivos monospóricos de cada aislado. Para ello, de cada aislado del hongo de unos 10 días de crecimiento en PDA, se tomó una porción de aproximadamente 0,5 x 0,5 cm agar con masa micelial de la zona más externa del cultivo por ser esta la parte donde el crecimiento del hongo es más activo. Las porciones se transfirieron a tubos con 10 ml de agua destilada estéril y se agitaron en vortex unos segundos con el fin de conseguir una suspensión homogénea de conidias. De esta suspensión, se hicieron diluciones sucesivas al décimo y de la 10^{-3} se tomaron 250 μ L para extenderlos con asa Digraslky sobre la superficie de medio PDA en

placas Petri. Las placas se dejaron secar abiertas unos minutos en la cámara de flujo laminar y se incubaron en oscuridad a 25°C.

A las 24 horas de la siembra, y trabajando en la cámara de flujo, se localizaron las colonias monospóricas con la ayuda de una lupa de aumento de 6x. De las colonias bien aisladas y asegurándose que no hubiera otra en la cercanía, se extrajo con un asa fina una conidia germinada por aislado para transferirla a medio PDA con el fin de lograr un crecimiento vegetativo rápido, eficiente y con la mayor cantidad posible de microesclerocios.

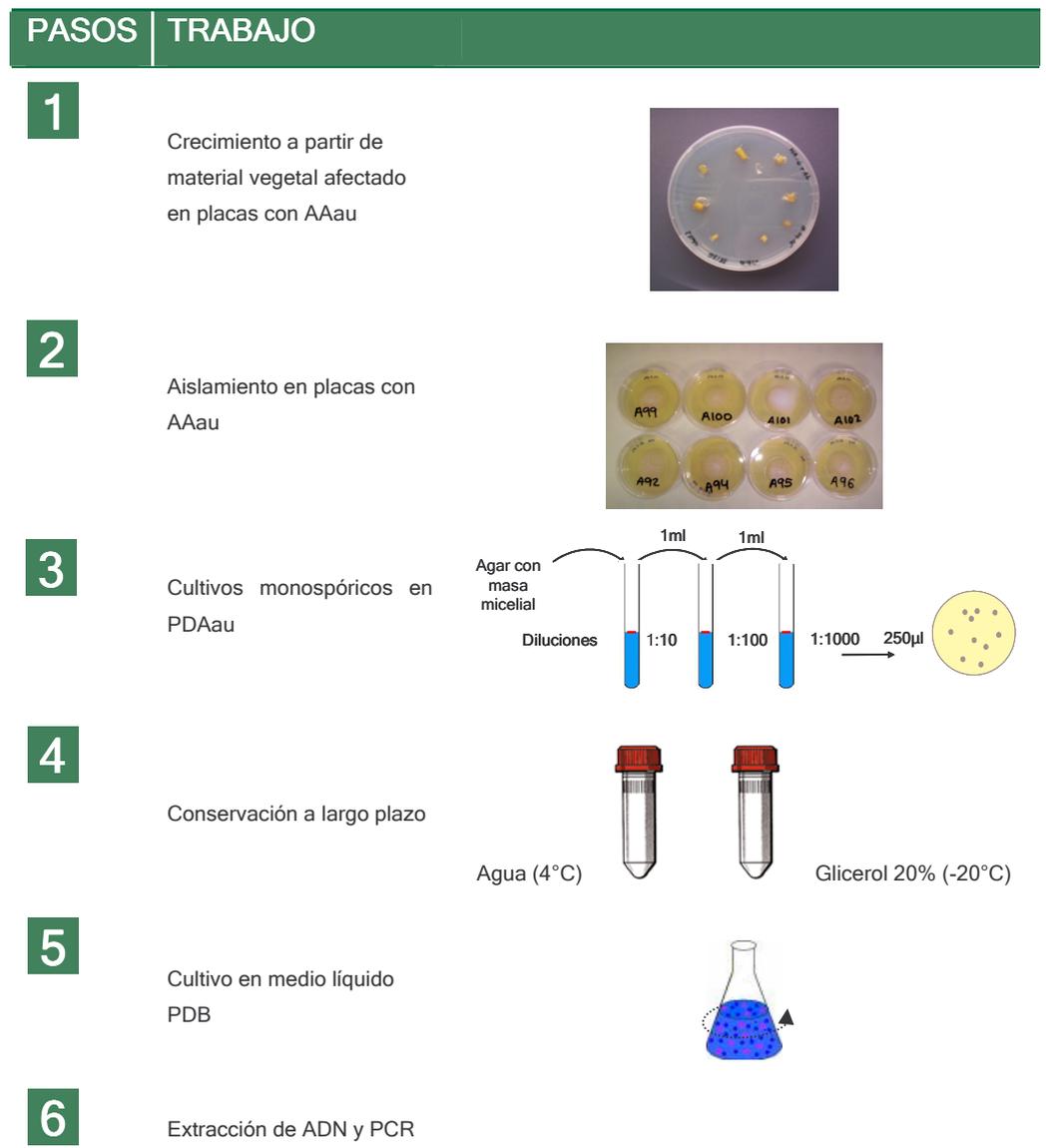


Figura 30. Esquema del procedimiento de aislamiento para la conservación del patógeno e identificación del patotipo

2.2.5 Conservación de *Verticillium dahliae* a largo plazo

Para la conservación a largo plazo, se ha optado por el mantenimiento en agua y glicerol de pequeñas piezas cuadradas de medio de cultivo que contengan gran cantidad de microesclerocios. Para ello, se parte de los cultivos monospóricos crecidos durante 2-4 semanas en medio PDA con abundancia de MC. En cámara de flujo se cortan con un escarpelo estéril pequeñas porciones cuadradas de medio, de aproximadamente 0,5 cm de lado, y de cinco a seis de ellas por cada aislado se colocan dentro de criotubos estériles, que contienen agua o glicerol al 20% en agua. Se hicieron dos réplicas por aislado y una vez etiquetados los criotubos se conservaron a 4°C o -20°C según contuvieran agua o agua glicerol, respectivamente. Para la recuperación, se colocan uno o dos trozos en medio de cultivo adecuado. Debido a que los métodos tradicionales mediante subcultivos son procedimientos de mantenimiento que emplean gran cantidad de tiempo y, además, *V. dahliae* se degrada espontáneamente en cultivos artificiales, se ha optado por esta metodología de conservación. La manifestación más obvia de degradación en *V. dahliae* es la formación de sectores en la placa o del cultivo entero de micelio hialino o semi-hialino, y la reducción o pérdida en la producción de conidias. La degradación de los cultivos se corresponde también con una disminución de la patogenicidad de los aislados. Como se pueden seleccionar involuntariamente estos segmentos degradados de los subcultivos obtenidos, se han descrito diversas técnicas para el mantenimiento de *V. dahliae* a largo plazo (Harris, 1998b).

2.2.6. Catalogación de los patotipos

La catalogación e identificación de los patotipos requirió una serie de pasos que se describen a continuación y que secuencialmente consistieron en:

1. Crecimiento de los aislados en cultivos líquidos.
2. Preparación del micelio para la extracción del ADN mediante los procesos de liofilización y molturación de la masa micelial.
3. Extracción de ADN a partir de micelio fúngico y determinación de la cantidad de ADN extraído y de la calidad e integridad del mismo.
4. Reacción de PCR usando los cebadores correspondientes y visualización del ADN amplificado en gel de agarosa.

2.2.6.1 Cultivos líquidos de los aislados

Cada aislado monósporico se creció en 100 ml de medio líquido PDB en matraces de 250 ml y se incubaron a 24°C en oscuridad en agitador orbital, a 125 r.p.m. durante 10 o 15 días.

Transcurrido este tiempo, la masa micelial se filtró a través de una doble capa de gasa estéril en un embudo y se conservó a -20° C en frascos roscados estériles correctamente etiquetados. Todo este proceso se realiza en cámara de flujo laminar (Pérez Artés et al., 2000).

2.2.6.2 Liofilización y molturación del micelio

Una vez congelada cada muestra, se procedió a su liofilización, y a continuación se hizo la molienda del micelio en mortero de bolas siguiendo el procedimiento recomendado por el fabricante del kit de extracción de ADN y especificado en trabajos previos de Mercado y colaboradores (2001). La molienda consistió en colocar en un microtubo de 2 ml, 20 mg de micelio liofilizado de cada muestra junto con una bola de acero de 3 mm de Ø. Los tubos se introducían en el adaptador del mortero de bolas (MM 301 Retsch®) e inmediatamente se molían a alta velocidad (30 Hz) durante 1 min. Para conseguir una homogeneización más completa, los tubos de 2ml se cambiaban de posición dentro del adaptador y las muestras se volvían a moler en las mismas condiciones.

2.2.6.3 Extracción, cuantificación y electroforesis de ADN

El ADN total se extrajo a partir de 20 mg de micelio liofilizado empleando el kit DNeasy® Plant Mini Kit de QIAGEN (EE.UU) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

El ADN extraído se cuantificó con la ayuda de un espectrofotómetro, según el método descrito por Sambrook y colaboradores (1989). Se determinó la absorbancia en cubetas de cuarzo de la solución de ADN a 260 nm y a 280 nm frente a un blanco de H₂O milliQ estéril. La concentración de ADN de la muestra se calculó respecto al valor estándar de $A_{260}=1$ para soluciones con 50 µg/ml de ADN. Se utilizó la relación A_{260}/A_{280} para estimar el grado de pureza de la preparación, considerándose los valores por debajo de 1,8 como indicadores de contaminación con proteínas.

La integridad del ADN total extraído se comprobó mediante electroforesis en geles de agarosa al 1% en tampón TBE 1x (10X: 500 mM Tris Base, 500 mM H₃BO₃, 25 mM EDTA, pH 8,3) (Sambrook et al., 1989). Las muestras se mezclaron en la proporción 4:1 muestra: tampón de carga 5x (5x: 50% sacarosa, 0,3% azul de bromofenol) y se utilizó como marcador de peso molecular EcoLadder I (Ecogen). La

visualización y fotografiado del ADN en los geles se realizó bajo luz UV (260nm) después de teñir con bromuro de etidio.

2.2.6.4 Reacción en cadena de la polimerasa

La amplificación PCR por fragmentos de ADN se realizó empleando el termociclador Eppendorf MasterCycler™ Personal y la enzima EcoTaq (Ecogen S.R.L., Barcelona).

Se utilizaron los cebadores específicos para amplificar ADN de los patotipos no defoliante y defoliante descritos por Mercado Blanco y colaboradores (2001; 2002).

En tubos de 0,2ml se preparó la siguiente mezcla de reacción:

- ADN molde (10-20 ng)
- 2,5 µL tampón 10x de la Taq DNA polimerasa termostable (-MgCl₂)
- 2,5 µL Triton X-100 1%
- 5 µL de dNTPs 1mM
- 1 µL de MgCl₂ 50 mM
- cebador 5' (0,25 µM concentración final)
- cebador 3' (0,25 µM concentración final)
- 0,5 µL Taq DNA polimerasa (5 U/µL)
- Agua bidestilada estéril hasta 25 µL

Las condiciones de reacción incluyeron una desnaturalización a 94°C durante 4 min, seguido de 30 ciclos, consistiendo cada uno de ellos en una fase de hibridación a 58°C durante 1 min, una extensión a 72°C durante 3 min, y una desnaturalización por 1 min a 94°C en una primera fase. Al final de los 30 ciclos se realizó una extensión final a 72°C durante 6 min.

Posteriormente, la metodología de amplificación se modificó adaptando el protocolo descrito por Mercado Blanco y colaboradores (2003), de manera que en el uso conjunto de tres cebadores en una sola reacción de PCR específica permite la caracterización a partir de ADN miceliar de la especie *V. dahliae* con la pareja de cebadores DB19 y DB22 de Carder y colaboradores (1994) y de sus patotipos defoliante (D) y no defoliante (ND) utilizando el cebador espdef01. Para ADN de aislados D se obtiene un patrón electroforético con dos amplicones de 539pb (DB19/DB22) y 334pb (DB19/espdef01). Por el contrario, para ADN de aislados ND se obtiene una banda de 523pb (DB19/DB22).

En tubos de 0,2 ml se preparó la siguiente mezcla de reacción con la proporción de cebadores 1.7:2 (DB22:DB19:espdef01) respectivamente.

- ADN molde (10 ng)
- 2,5 µL tampón 10x de la Taq DNA polimerasa termostable (-MgCl₂)
- 2,5 µL Tritón X-100 1%
- 5 µL de dNTPs 1mM
- 1 µL de MgCl₂ 50 mM
- cebador 5' (1µM concentración final)
- cebador 3' (7 µM concentración final)
- cebador interno 3' (2 µM concentración final)
- 0,5 µL Taq DNA polimerasa (5 U/ µL)
- Agua bidestilada estéril hasta 25 µL

Se utilizó un programa de amplificación con una desnaturalización a 94°C durante 4 min seguido de 35 ciclos, consistiendo cada uno de ellos en una fase en una desnaturalización a 94°C durante 1 min, una fase de hibridación a 62°C durante 1 min y una extensión a 72°C durante 30 seg. Al final se realizó una elongación a 72°C durante 6 min.

Los cebadores utilizados en las diferentes reacciones de PCR realizadas en este estudio se recogen en la Tabla 13.

La visualización de los productos de PCR se hizo mezclando 12 µl de la reacción de PCR con 2 µl de tampón de carga en las mismas condiciones que para la electroforesis de ADN genómico, de forma paralela a un marcador de pares de bases adecuado. Como marcadores de peso molecular se utilizaron el marcador de 100pb (Amersham) para visualizar los amplificados de menor peso molecular, y el marcador III (Roche) para los amplificados de mayor peso molecular.

2.3 TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO DE DATOS

2.3.1 Base de los datos SIG

Se diseñó una base de datos SIG que soporta toda la información recogida en los formularios correspondientes a cada parcela oleícola y sus coordenadas UTM. La complejidad de la carga de la información ha sido importante partiendo inicialmente de una tabla que contiene numerosos campos que representan las características de la finca, de la plantación, la procedencia de la planta, las prácticas culturales y la sintomatología de la enfermedad.

A esta base de datos se le añadió la información correspondiente al diagnóstico, considerándose dos categorías: sin síntomas, parcelas oleícolas en las que no se registraron indicios de la presencia de *V. dahliae* y por el contrario, con síntomas,

aquellas parcelas cuyos olivos pudieran presentar sintomatología de Verticilosis. Donde se produjo el aislamiento de *V. dahliae* a partir de los análisis en el laboratorio, se consideró como resultado Positivo.

Tabla 13: Cebadores utilizados en las reacciones de PCR

CEBADOR	USO	SECUENCIA 5'-----3'	REFERENCIA
NDf	Específico patotipo ND	ATCAGGGGATACTGGTACGAGA	
NDr	Específico patotipo ND	GAGTATTGCCGATAAGAACATG	Mercado Blanco et al., 2001
IntNDf	Específico patotipo ND	CCACCGCCAAGCGACAAGAC	
IntNDr	Específico patotipo ND	TAAACTCCTTGGGGCCAGC	
Df	Específico patotipo D	CATGTTGCTCTGTTGACTGG	
Dr	Específico patotipo D	GACACGGTATCTTTGCTGAA	Mercado Blanco et al., 2002
IntDf	Específico patotipo D	ACTGGGTATGGATGGCTTTCAGGACT	
IntDr	Específico patotipo D	TCTCGACTATTGGAAAATCCAGCGAC	
DB19	Determinación de especie <i>V. dahliae</i>	CGGTGACATAATACTGAGAG	Carder et al., 1994; Mercado Blanco et al., 2003
DB22	Determinación de especie <i>V. dahliae</i>	GACGATGCGGATTGAACGAA	
Espedef01	Específico patotipo D	TGAGACTCGGCTGCCACAC	Mercado Blanco et al., 2003

2.3.2. Organización de los datos SIG

Un modelo descriptivo es aquel que caracteriza o describe el mundo real. La utilización de ArcGIS 9.1[®], un programa de sistema de información geográfica (GIS) y trazado de mapas, permitió situar geográficamente las parcelas con su información correspondiente recogida en el formulario y, además, vincularlas con otras variables ambientales digitalizadas. Se realizó un modelo descriptivo mediante mapas que

visualizan la situación actual de distribución del patógeno y su relación con dichas variables.

Las variables utilizadas en este estudio son coberturas de información que actualmente contiene el sinambA (Red de Información Ambiental de Andalucía Compendio de Cartografía y estadísticas. 2001), que corresponde a un proyecto de divulgación de la Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía en formato CD-ROM. El sinambA cuenta con coberturas digitales para numerosas variables ambientales. Las que se han utilizado en este estudio son las siguientes: variables concernientes a parámetros meteorológicos, como temperaturas o precipitaciones; variables del uso y coberturas vegetales que recoge información para usos agrícolas y forestales-naturales del año 1995; variables correspondientes a altimetría y pendientes medias.

Además se han utilizado el Mapa de Suelos de Andalucía (CSIC - IARA, 1989) (escala 1:400.000), y el Mapa de cultivos y aprovechamientos, Provincia de Granada, realizado a partir de fotografías aéreas 1:60.000 realizadas en 1995-1996. (Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía).

El Mapa de Suelos de Andalucía se agrupa en Unidades Cartográficas caracterizadas por asociaciones, definidas y diferenciadas específicamente en el paisaje. Estas Unidades, estudiadas en cuanto a las características de los suelos que incluyen, pueden orientar sobre su capacidad de uso. Una descripción de estas Unidades Cartográficas se encuentra disponible en la Memoria del MAPA (1989). Particularmente, se describen a continuación las Unidades principales para este estudio:

UNIDAD 2

Comentario General

Esta Unidad comprende las fértiles vegas andaluzas. Sus suelos son característicos de valles fluviales, habiéndose desarrollado sobre sedimentos aluviales recientes.

Presentan perfiles poco diferenciados, del tipo AC, que pueden tener irregular distribución en profundidad de materia orgánica o más del 1% en 1 metro de profundidad, texturas francas y horizontes A O Ap ócricos.

En las zonas donde estos sedimentos atraviesan materiales calizos y margosos, el perfil posee un apreciable contenido en carbonato cálcico, con ph alcalino, que a veces alcanza valores próximos a 9. En materiales no calcáreos estos suelos no presentan reacción caliza, aunque poseen, en general, un elevado grado de saturación en bases.

En la campiña ocupan amplias y alargadas extensiones, de acuerdo con la importancia de los cursos fluviales a partir de cuyas márgenes se extienden, con dedicación preferente a los cultivos en regadío.

Extensión: 373.900 ha (4,3% del territorio).

Intervalo de altitud: La gran mayoría se localizan por debajo de 300/400 metros.

Relieve: Plano a casi plano, con pendientes prácticamente inferiores al 2%.

Vegetación y uso: Vegetación calcícola húmeda, sobre todo de gramíneas, aunque la vegetación natural es escasa por estar cultivados intensamente.

Suelo dominante: Fluvisol calcáreo.

Limitaciones: Prácticamente ninguna, a excepción de cursos bajos, con ocasionales indicios de salinidad por su proximidad a terrenos yesíferos o a marismas.

Consociación: FLUVISOLES CALCAREOS (FLUVISOLES EUTRICOS).

Geología: Sedimentos aluviales, arenas y gravas del Pleistoceno.

Perfiles: CO-07-(1-5), GR-11-(1-6), SE-09-(1-4) del catálogo de suelos de Andalucía.

UNIDAD 15

Comentario General

Suelos de montaña media, en las provincias de Granada y Almería, desarrollados sobre esquistos, filitas y calizas, con fuertes pendientes. La acentuada erosión hace predominar los Lltosoles en las áreas más accidentadas, y los Regosoles en las zonas menos abruptas, junto a Luvisoles crómicos (suelos rojos, relictos) con inclusiones de Cambisoles.

Extensión: 35.840 ha (0,4% del territorio).

Intervalo de altitud: 200 a 1600 m.

Relieve: Fuertemente socavado (pendientes de más del 25%).

Vegetación y uso: Encinar (*Quercus rotundifoliae*) y retamas (*Retama spherocarpa*); uso cinegético y ganadería extensiva de caprino.

Suelo dominante: Litosol/Regosol.

Limitaciones: Fuertes pendientes y escasa profundidad de solum; pedregosidad.

Asociación: LITOSOLES, REGOSOLES EUTRICOS, LUVISOLES CROMICOS E INCLUSIONES DE CAMBISOLES EUTRICOS.

Geología: Esquistos, filitas y calizas

Perfiles: AL-01-(1-4), GR-04-(1-4), MA-02-(1-3) del catálogo de suelos de Andalucía.

UNIDAD 41

Comentario General

Esta Unidad suele localizarse en contacto con la Unidad 11, en el NW de la provincia de Granada.

Presentan frecuentes enclaves salinos por lavado de los yesíferos de aquella. La textura dominante es franca, las pendientes son variables, pero predominan las inclinadas a las moderadamente escarpadas; en éstas últimas se asientan principalmente los Regosoles

Extensión: 9.670 ha (0,1% del territorio).

Intervalo de altitud: 750 a 900 metros.

Relieve: Inclinado, con moderados escarpes.

Vegetación y uso: Xerofítica y salicícola; cultivos de secano de baja producción, y estacionalmente ganadería extensiva.

Suelo dominante: Cambisol calcico.

Limitaciones: Sequía estival y frecuentemente salinidad en el solum.

Consociación: CAMBISOLES CALCICOS, INCLUSIONES DE REGOSOLES CALCAREOS.

Geología: Conglomerados, sedimentos arenosos y limos.

Perfiles: ----

2.3.3 Elaboración de un mapa de riesgos

Se ha diseñado un mapa de riesgos orientativo con el fin de estimar la ocupación potencial del patógeno en el suelo bajo ciertas condiciones. Este proceso se realizó mediante la aplicación conjunta del programa ArcGIS 9.1 ® y la estadística convencional que determinó las variables ambientales que mejor explicaban la distribución particular del patógeno en el suelo. De todas las variables ambientales analizadas y descritas en el apartado anterior, como son por ejemplo, altitud, pendiente, temperatura, etc., las estadísticamente significativas fueron los usos del suelo, y el tipo de suelo. Por ello, las fuentes de información cartográfica digital utilizadas para la elaboración del mapa de riesgos fueron:

-Mapa Digital de Suelos de Andalucía (CSIC - IARA, 1989) (escala 1:400.000)

-Mapas de usos del suelo y cubiertas: Mapa de Usos del Suelo y Cubiertas Vegetales (sinambA 1995) y el Mapa Digital de Cultivos y Aprovechamientos. Provincia de Granada (Consejería de Agricultura y Pesca, 2001, a partir de fotografías aéreas 1: 60.000 realizadas en 1995-1996).

Para elaborar el mapa de riesgos a cada unidad o zona homogénea se asignó un valor sintético de riesgo según los diversos criterios de valoración en base a las variables ambientales anteriormente citadas (Tabla 14). Los criterios de valoración se

extienden desde el valor más alto de “6” asignado a aquellas zonas donde el riesgo es máximo, hasta las zonas con valor asignado de “0” donde el riesgo es mínimo. A partir de la suma de las puntuaciones obtenidas para cada criterio de valoración se obtuvieron cuatro clases de zonas según el nivel de riesgo: bajo, moderado, alto y muy alto (Tabla 15) (MOPT, 1992).

Tabla 14 : Valoración de las unidades homogéneas para cada variable utilizada

Mapa de Usos del Suelo y Cubiertas Vegetales		Mapa Digital de Cultivos y Aprovechamientos		Mapa de Suelos de Andalucía	
Unidades homogéneas	Valor	Unidades homogéneas	Valor	Unidades homogéneas	Valor
-Herbáceos en regadío	6	-Huerta	6	-Unidad 2	6
-Mosaico de cultivos en secano y regadío	5	-Herbáceos en regadío	5	-Unidad 41	5
-Cultivos leñosos y mosaicos de cultivos en regadío	4	-Mezclas	4	-Unidad 15	4
-Cultivos herbáceos en secano	3	-Herbáceos en secano	3		
-Cultivos leñosos y mosaicos de cultivos en secano	2	-Olivar en regadío	2		
-Olivar	1	-Olivar en secano	1		
-Superficies en regadío no regadas	1				
-Resto de usos	0	-Resto de cultivos	0	-Resto de Unidades	0

Tabla 15. Criterios para determinar el grado de susceptibilidad de los suelos a *V. dahliae* en base a las variables establecidas

Rango de puntos	Clase de riesgo
(0-1)	bajo
(2-5)	moderado
(6-9)	alto
(9-18)	muy alto

2.3.4 Análisis y técnicas estadísticas utilizadas

Para el análisis estadístico se ha utilizado el software SPSS v.12.

2.3.4.1 Parámetros estudiados

En epidemiología, los parámetros más comúnmente utilizados para cuantificar una enfermedad se engloban en dos categorías: Prevalencia e Incidencia (Tapia Granados, 1995; Argimón Pallás y Jiménez Villa, 2000).

Prevalencia

La prevalencia (P) de una enfermedad es el número de casos de la misma en una población y en un momento dado o periodo de tiempo determinado. En este estudio queda definida como el porcentaje de parcelas oleícolas con VO respecto al total de parcelas prospectadas. Su cálculo se estima mediante la expresión:

$$P = \frac{\text{Parcelas oleícolas con Verticilosis del olivo}}{\text{Parcelas oleícolas totales}}$$

Sus características son las siguientes: Es una proporción, por lo tanto, no tiene dimensiones y su valor oscila entre 0 y 1, aunque suele expresarse como porcentaje. La prevalencia indica el peso o la abundancia del evento que soporta la población.

Hay una serie de factores que influyen en la Prevalencia y son:

- La duración de la enfermedad: si una enfermedad dura mucho tiempo, su tasa de prevalencia será mayor.
- Tasa de letalidad: Si la tasa de letalidad es elevada la prevalencia disminuye.
- Si la prolongación de la vida de los huéspedes es elevada la prevalencia aumenta.
- El número de casos nuevos: si son muchos los huéspedes que contraen la enfermedad, la tasa de prevalencia será mayor.

Incidencia

La incidencia (I) se define como porcentaje de olivos totales con VO respecto al total de olivos prospectados. La incidencia es una medida de la velocidad promedio a la que se propaga la enfermedad. También es una proporción, y su valor oscila entre 0 y 1, y se expresa como porcentaje. Su cálculo se estima mediante la expresión:

$$I = \frac{\text{Número de olivos totales con Verticilosis del olivo}}{\text{Numero de olivos prospectados}}$$

2.3.4.2 Tablas de contingencia

Las tablas de contingencia se utilizan para conocer si existe o no relación entre variables de tipo cualitativo. El análisis estándar que se realiza en el cruce de dos variables es la prueba de independencia de ambas variables. Dos variables son independientes si el reparto de frecuencias de una variable no se modifica por los distintos niveles de la otra variable. Para contrastar esta hipótesis se usa el estadístico chi cuadrado. El estadístico es una función de las diferencias entre las frecuencias observadas y las esperadas si los caracteres fuesen independientes. Se calcula como sigue:

$$X^2 = \sum_i \sum_j \frac{(o_{ij} - e_{ij})^2}{e_{ij}}, \text{ con } e_{ij} = \frac{R_i \times C_j}{n}$$

donde o_{ij} son las frecuencias observadas, e_{ij} las frecuencias esperadas, R_i el total de la fila i , C_j el total de la columna j , y n el número total de casos.

En caso de independencia el estadístico vale 0, y la asociación entre los caracteres es significativa si el p-valor asociado al estadístico es inferior al nivel de significación propuesto ($p < 0.05$). Para tablas 2x2 el cálculo se basa en el test exacto de Fisher para evaluar la asociación. El p-valor tiene la misma interpretación.

2.3.4.3 Contrastes t-Student

Este contraste paramétrico se plantea para determinar si las puntuaciones medias de dos grupos son estadísticamente diferentes entre sí. De esta forma, suponiendo que la variable de contraste es Normal (o que se tienen más de 25 observaciones por grupo), se calcula el siguiente estadístico experimental basado en las puntuaciones medias de cada grupo y se compara con un valor de probabilidad de la distribución t-Student con n_1+n_2-2 grados de libertad a un nivel estándar del 0,05.

Considerando además que se ha de estimar la variabilidad poblacional, en el texto se han considerado los casos en que las variabilidades de los grupos son iguales o no.

En cualquiera de los casos se rechaza la hipótesis nula (igualdad de medias) si el valor experimental es mayor que el valor de contraste, o bien si el p-valor asociado al estadístico experimental es inferior a 0,05.

2.3.4.4 ANOVA (Análisis de la Varianza) de un factor

El Análisis de la Varianza se puede considerar como una extensión del anterior cuando se trata de comparar las puntuaciones medias de más de dos grupos. Básicamente se trata de determinar si existen diferencias significativas entre las puntuaciones de la variable dependiente Y en función de los niveles de un factor. El modelo tiene la siguiente expresión

$$Y_{ij} = \mu + \tau_j + \varepsilon_{ij}$$

en donde Y_{ij} es la variable dependiente, μ es la constante que recoge la respuesta media de todos los niveles del factor, τ_j es el efecto diferencial del nivel j , y ε_{ij} un término de error distribuido normalmente con media 0 y varianza σ^2 .

El método proporciona un p-valor asociado a un estadístico F-Snedecor, de tal forma que si éste es inferior a 0,05 se concluye que existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los distintos niveles sobre la variable dependiente. En este caso además se identificarán las diferencias entre los niveles dos a dos.

El método es sensible al caso de desigualdad de varianzas de las puntuaciones para los distintos niveles del factor. Para contrastar la igualdad se utiliza el test de Levene.

2.3.4.5 Mapas de escalamiento óptimo

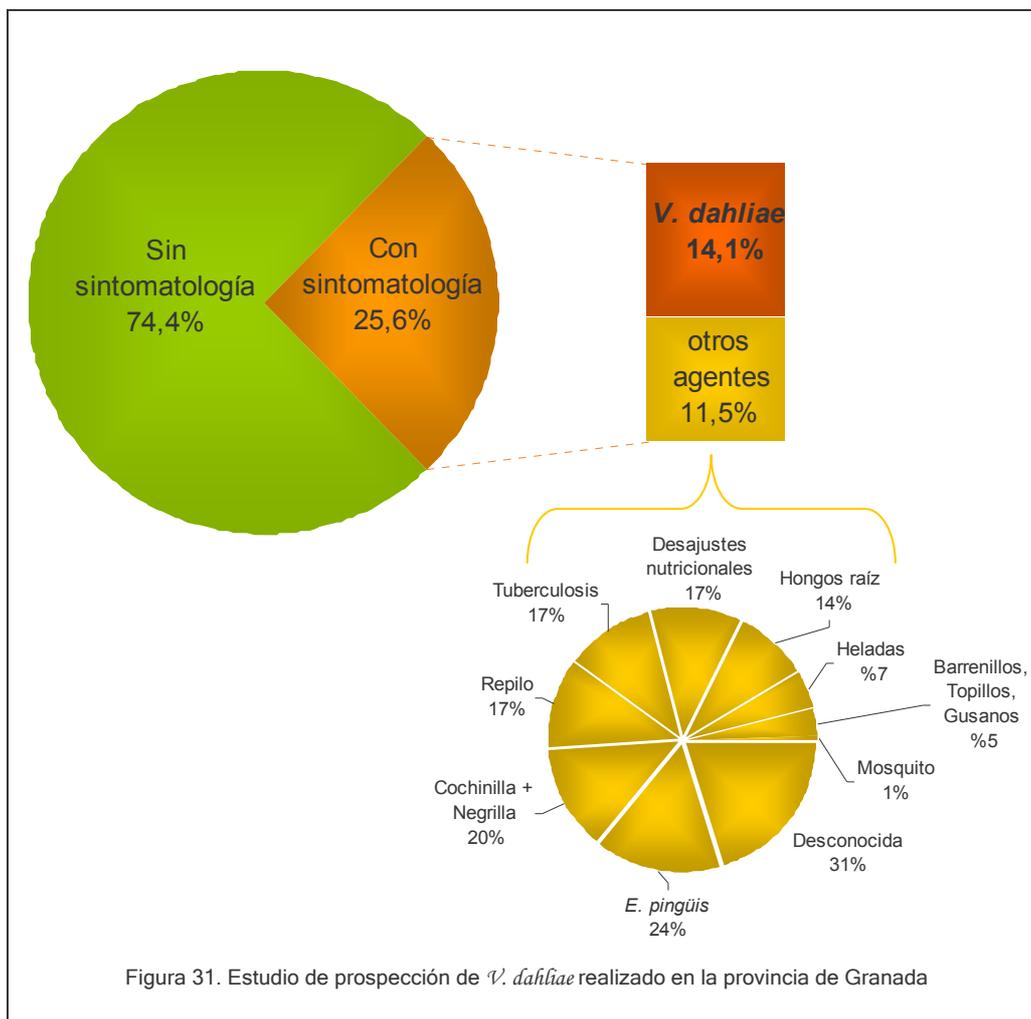
El escalamiento óptimo crea mapas perceptuales que permitirán descubrir afinidades entre las modalidades de variables categóricas. La técnica de escalamiento usada ha sido la de Correspondencias Múltiples o Análisis de Homogeneidad. Esta técnica analiza una matriz de datos categórica multivariante, cuantificando los datos nominales asignando valores numéricos a los casos y a las categorías. Su objetivo es describir las relaciones entre dos o más variables nominales en un espacio de bajas dimensiones que contienen las categorías de las variables así como los objetos en dichas categorías.

Resultados

3.1 LA VERTICILOSIS DEL OLIVO EN LA PROVINCIA DE GRANADA

3.1.1 Estudio epidemiológico

De los 873 olivares, un 74,4% (unas 2.256,3 ha) no presentó evidencias de sintomatología inespecífica que pudiera estar relacionada con la presencia de VO. El 25,6% restante sí presentó algún tipo de síndrome que pudiera estar relacionado con la VO (Figura 31). En un 11,5% de los casos, el aislamiento de *V. dahliae* resultó negativo, debiéndose la etiología de los síntomas a otras causas o agentes, mientras que un 14,1% de las plantaciones (un total de 123 parcelas con 988,4 ha) resultaron positivos para el aislamiento de *V. dahliae* (Figura 31).



Los distintos agentes, responsables del 11,5 % de las plantaciones con sintomatología inespecífica y sin aislamiento de *V. dahliae*, fueron los siguientes (Figura

31): *Euzophera pingüis* (Lepidoptera: Plutellidae) y el hongo negrilla (*Capnodium elaeophilum*) junto a la Cochinilla del olivo (Homoptera: Coccoidea) se identificaron en un 24 y 20% de las plantaciones respectivamente; con una frecuencia del 17% se presentaron el Repilo, la Tuberculosis, así como deficiencias nutricionales; las asfixias radiculares junto con anillamiento del cuello de la raíz supusieron un 14%; las heladas un 7%, barrenillos, topillos y /o gusanos de la raíz incidieron entre un 4-6%, mientras que en un único caso se observó mosquito de la corteza y en un 31% de los casos, la causa de la sintomatología no pudo ser identificada.

Las heladas produjeron una sintomatología muy parecida a la de la VO y se detectaron especialmente en olivos muy jóvenes. La observación de raíces oscuras coincidió con las zonas de encharcamiento especialmente en terrenos muy compactados. Resultó frecuente encontrar estos problemas en vaguadas y zonas de escorrentía, además se combinaban con problemas de anillamiento del cuello de la raíz (*Fusarium spp*). Los problemas nutricionales fueron más numerosos en las zonas de las sierras de suelos ácidos o en suelos salinos, además en olivares con fertirrigación también se detectaron desajustes nutricionales.

La presencia conjunta de Verticilosis y ataques de *E. pingüis* se observó en el 11% de los casos.

3.1.2 Prevalencia, incidencia y distribución geográfica de la Verticilosis del olivo en la provincia de Granada

La estimación de la proporción de Verticilosis fue de un 14,1%, que se correspondió con 988,4 ha. Estos datos extrapolados, indican que unas 150.227 ha de un total de 174.682 ha de olivar que hay en la provincia de Granada, están libres de patógeno. Se han contabilizado 2.423 árboles infectados por *V. dahliae* (Tabla 14), lo que extrapolado supone unos 103.073 olivos enfermos o muertos. La incidencia de la enfermedad fue del 1,9% (Tabla 15).

Los resultados indican que la VO esta ampliamente extendida por el área de distribución del olivo en la provincia de Granada. Sin embargo, las afectaciones no se distribuyeron de forma homogénea, estando asociada estadísticamente a determinadas comarcas oleícolas ($X^2= 27,49$ p-valor $0,000015 < 0,005$) (Tabla 15). Las comarcas del Norte y de la Vega fueron las que obtuvieron prevalencias superiores a la media provincial del 14,1%, con valores del 15,5% y 15,2% respectivamente. Le siguen en importancia las comarcas de Levante con un 13,8% y del Sur, con un 10,3%. Finalmente, la comarca de Alhama, fue la que obtuvo menor prevalencia de la enfermedad, con un porcentaje inferior al 10% (Tabla 15).

Tabla 14: Número de olivos afectados de Verticilosis en las parcelas donde se detectó VO en la provincia de Granada

COMARCAS	Número de árboles afectados	Número total de árboles
Norte	1.324	50.997
Vega	649	49.051
Alhama	175	20.909
Sur	126	2.021
Levante	149	1.822
TOTAL PROVINCIAL	2.423	124.800

Tabla 15. Prevalencia e incidencia de la VO por comarcas olivareras

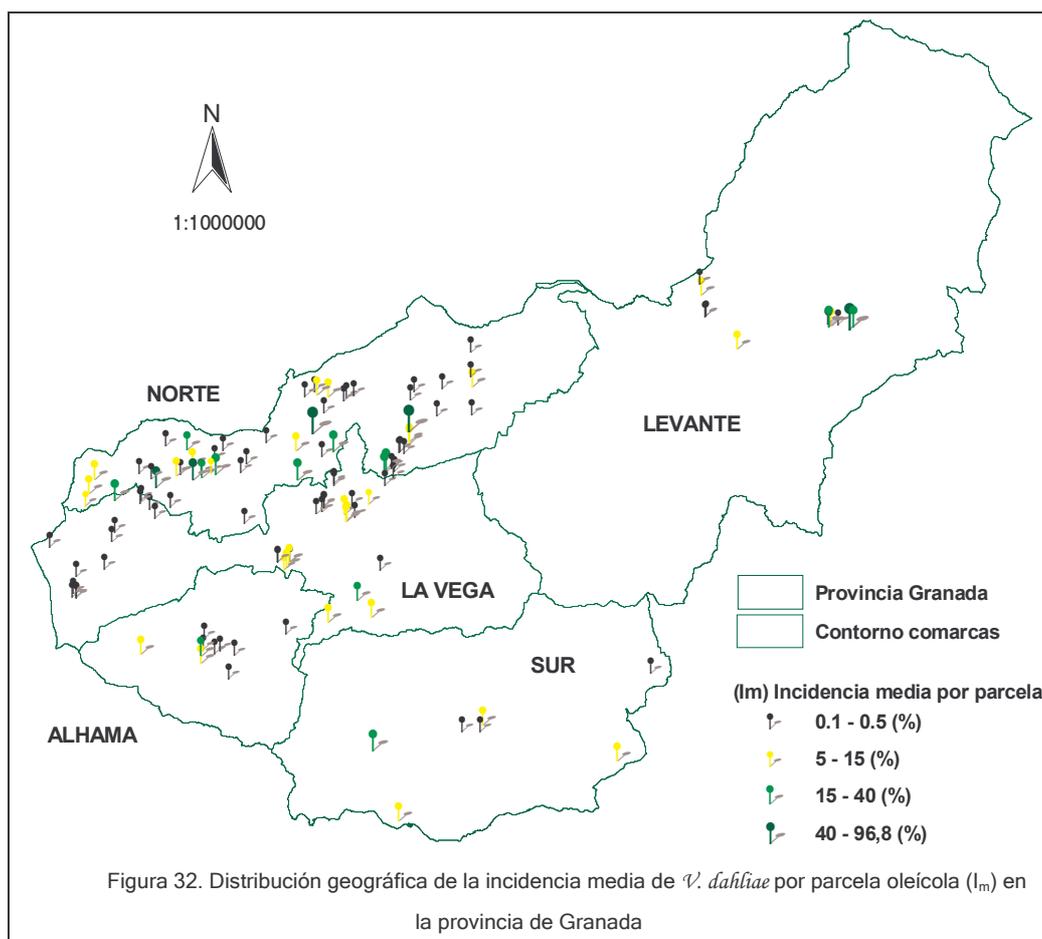
ZONA	PREVALENCIA (%)	INCIDENCIA (%)
Norte	15,5	2,6
Vega	15,2	1,3
Alhama	9,3	0,8
Sur	10,3	6,2
Levante	13,8	8,2
MUESTRA PROVINCIAL	14,1	1,9

Las diferencias entre la incidencia de la enfermedad fueron muy significativas entre las distintas comarcas ($X^2=856,32$ p valor < 0,00001), siendo mayor en la comarca de Levante con un porcentaje del 8,2%, seguida de las comarcas del Sur y del Norte con valores del 6,2% y del 2,6% respectivamente. Las comarcas de la Vega y de Alhama fueron las zonas con menor incidencia con cifras que rondaron el 1% (Tabla 15).

La incidencia media por parcela (Im), medida como la media del porcentaje de olivos con VO en una plantación respecto al total de olivos que hay en esa plantación, fue del 9,5% variando entre las diferentes plantaciones desde el 0,1% hasta el 97%. En la Figura 32 se detalla la distribución geográfica de la incidencia media por parcela (Im) donde se hacen visibles las diferencias entre comarcas. En la comarcas de la Vega y Alhama, casi todas las plantaciones donde se detectó Verticilosis, presentaron menos del 5% de sus olivos afectados, algunas parcelas tuvieron entre el 5 y el 15%, y tan solo esporádicamente aparecieron plantaciones con más del 40% de sus árboles afectados. Sin embargo, en la comarca de Levante y en menor grado en la del Sur, cuando aparece una parcela afectada por VO, el grado de infección resulta muy elevado con más del 15% de sus olivos enfermos. En la comarca del Norte se determinaron numerosas plantaciones con diferente grado de Im, pero a pesar de que

los olivares con menos del 15% de árboles afectados representaron el 78% de los casos, resultó llamativo el elevado número de parcelas con valores de I_m altos.

Estos resultados ponen de manifiesto que aunque la VO se distribuye fundamentalmente por las comarcas de la Vega y del Norte, donde aparece con una frecuencia similar, la incidencia de la enfermedad fue superior en las comarcas de Levante, Sur y Norte. Por otro lado, es de destacar que la comarca de Alhama tuvo la menor prevalencia de aparición e incidencia de la enfermedad.



3.1.3 Análisis de los patotipos de *Verticillium dahliae*

Un 76% de las parcelas afectadas por VO estuvieron infectadas por el patotipo ND y un 24% por el patotipo D, lo que supone una prevalencia de 10,7% para el ND y de 3,4% para D (Tabla 16). Los aislados ND provocaron mayores tasas de incidencia (Tabla 16), y afectaron casi el doble de árboles por parcela que los aislados D, con un número medio de olivos infectados por parcela de 12 y 23 respectivamente. Se han

contabilizado un total de 2.088 árboles afectados por el patotipo ND y 335 árboles por el D, lo que supone, si extrapolamos, que hay un total de 88.822 olivos enfermos por el patotipo ND y 14.251 olivos por el patotipo D.

Tabla 16. Prevalencia e incidencia de los patotipos D y ND de *V. dahliae* en el olivar de la provincia de Granada

	PATOTIPOS	
	defoliante	no defoliante
Prevalencia (%)	3,4	10,6
Incidencia (%)	1,2	2,2
Total árboles afectados	335	2.088

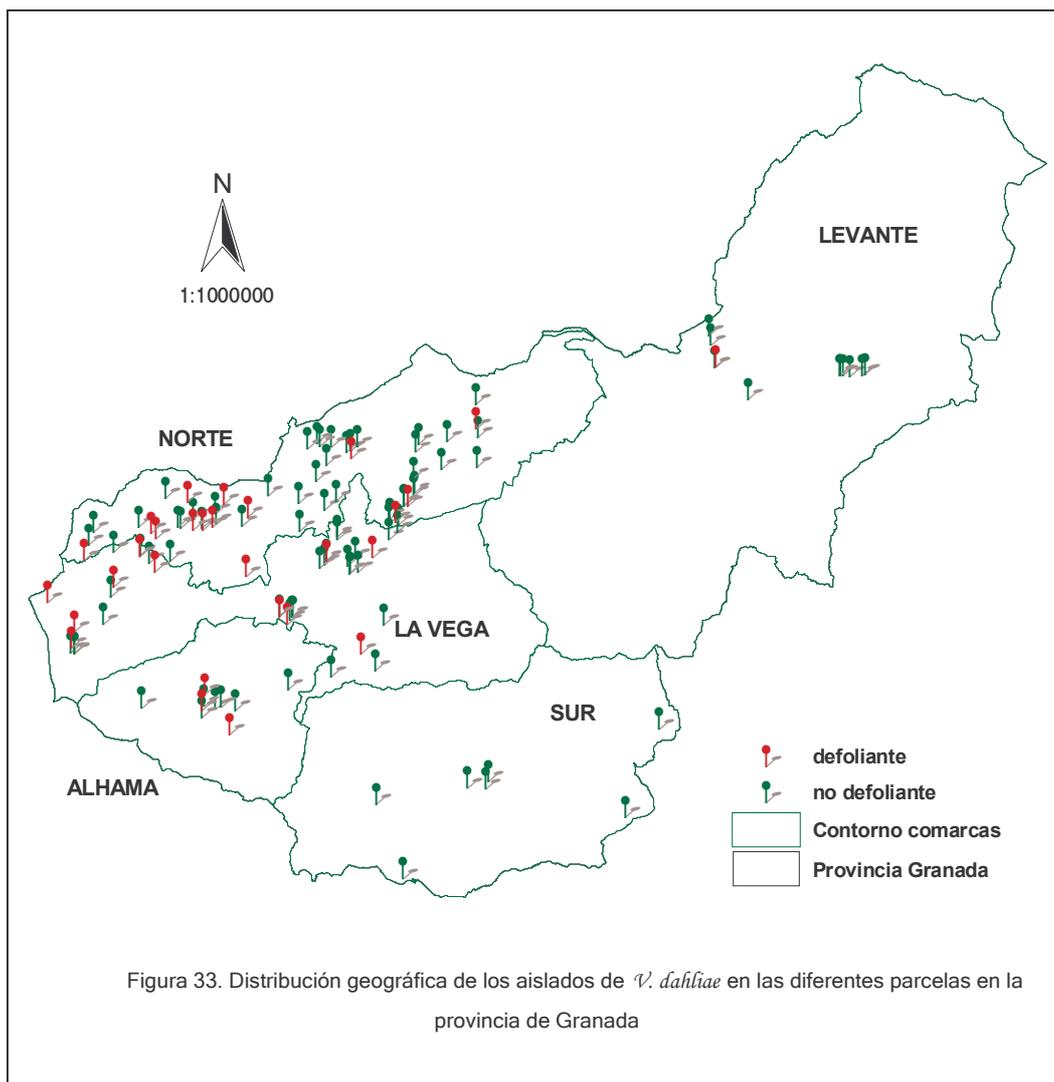
Los aislados altamente virulentos de *V. dahliae* están estadísticamente asociados a determinadas zonas geográficas, concentrándose en la parte occidental de la provincia y siendo menos numerosos en las demás zonas (Figura 33) ($X^2= 76,21$ p-valor $0,0000 < 0,05$). En todas las comarcas olivareras el patotipo ND fue más prevalente que el D, estando este último más extendido en la comarcas del Norte, Alhama y de la Vega, resultando muy poco frecuente en el Levante y estando ausente en la comarca del Sur (Tabla 17; Figura 33).

En la Figura 34 se compara el porcentaje que cada patotipo aporta al valor total, independientemente del tamaño muestral, para observar la importancia relativa de este aislado en cada comarca. Se corrobora la importancia del patotipo D en comarcas como la Vega, Alhama, y el Norte por este orden.

Tabla 17. Prevalencia e Incidencia de ambos patotipos (ND y D) de *V. dahliae* en las diferentes comarcas olivareras de la provincia de Granada

COMARCAS	PATOTIPOS			
	PREVALENCIA (%)		INCIDENCIA (%)	
	defoliante	no defoliante	defoliante	no defoliante
Norte	3,7	11,6	3,7	2,5
Vega	4,8	10,4	0,5	1,7
Alhama	2,8	6,5	0,6	0,9
Sur	-	10,3	-	6,2
Levante	1,1	12,6	0,3	11,9
Total provincial	3,4	10,7	1,2	2,2

En resumen, el ND fue el patotipo más prevalente en todas las zonas prospectadas, afectando a más número de olivos en la parte noreste y sur de la provincia, abarcando a las comarcas de Levante y del Sur. El patotipo D no estuvo presente en la comarca del Sur y su prevalencia e incidencia en Levante fue mínima. Se distribuye principalmente por las comarcas de la Vega, Alhama y del Norte, aunque su incidencia fue mayor en el Norte y en Alhama.



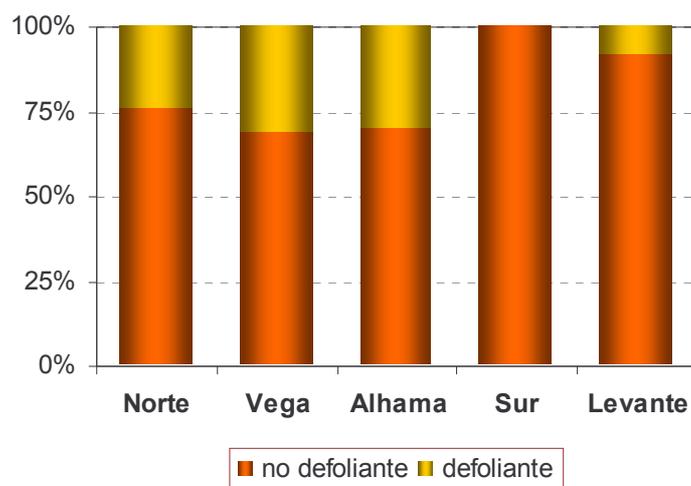


Figura 34. Aportación relativa de prevalencia de cada uno de los patotipos (ND y D) de *V. dahliae* dentro de cada comarca olivarera en la provincia de Granada

3.1.3.1 Severidad de los patotipos

Los aislados del patotipo D tuvieron mayor agresividad y produjeron infecciones más severas que los aislados ND, provocando incluso un 17% de árboles muertos frente al 2% provocado por los ND. En un 42% y 31% de los casos, los niveles de severidad del patotipo D se situaron entre los valores 3 y 2 respectivamente. Sin embargo, el patotipo ND provocó un nivel de severidad entre 2 y 3 en un 47% y 35% de los casos, además causó defoliaciones ligeras de los árboles en un 16% los casos, y sólo un 2% de árboles muertos (Tabla 18).

Tabla 18. Severidad de ambos patotipos de *V. dahliae* en el olivar de la provincia de Granada

NIVEL DE SEVERIDAD	PATOTIPOS	
	no defoliante	defoliante
Nivel 1	16%	10%
Nivel 2	47%	31%
Nivel 3	35%	42%
Nivel 4	2%	17%

Nivel 1: Brotes muertos y ligera defoliación; Nivel 2: Brotes y ramas muertas; Nivel 3: Brotes y ramas muertas en más del 60%; Nivel 4: árbol muerto

3.2 LA VERTICILOSIS DEL OLIVO Y ASPECTOS AGRONÓMICOS

3.2.1 Régimen de cultivo: seco/regadío

Las parcelas en seco constituyeron un 67% del total del muestreo, mientras que las parcelas en regadío representaron un 33%. A pesar de que la mayor parte del olivar prospectado fue de seco, la prevalencia de la VO en las parcelas con riego ($P = 25,6\%$) fue estadísticamente superior a la registrada en las parcelas de seco ($P = 8,5\%$) ($X^2=46,43$ p valor asociado $< 0,0001$) (Figura 35). El régimen de cultivo no influyó sobre la incidencia de la enfermedad, mostrando valores muy similares de 1,9% de árboles afectados en seco y de 2,0% de árboles afectados en regadío.

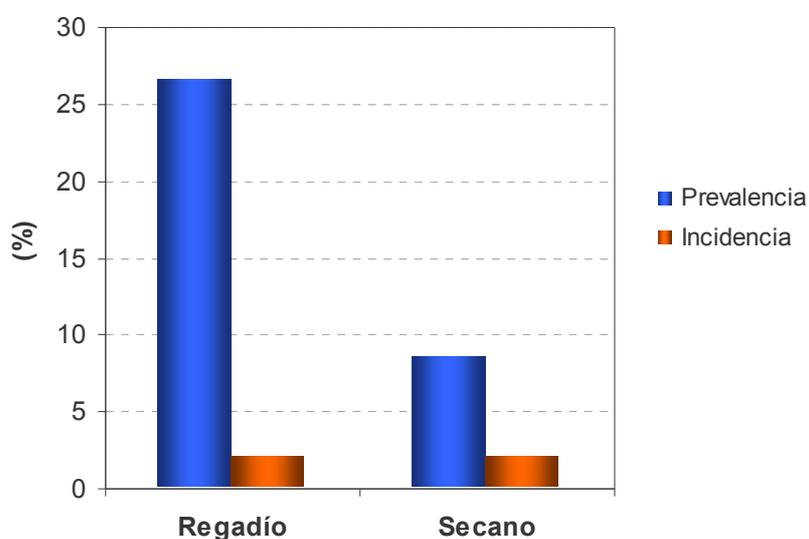


Figura 35. Prevalencia e incidencia de la VO según régimen de cultivo en la provincia de Granada

3.2.1.1 Patotipos

Los porcentajes contabilizados de prevalencia según el régimen de cultivo para los patotipos fueron superiores en regadío, confirmando que la VO está estadísticamente asociada a este sistema de cultivo (Tabla 19). Sin embargo, hay diferencias significativas al comprobar la contribución relativa de cada uno de los patotipos por régimen de cultivo ($X^2= 5,392$ p valor asociado $< 0,02$) (Figura 36). Aunque, tanto los aislados D como los ND son más frecuentes en las parcelas con riego, la importancia relativa del patotipo D fue mayor en las parcelas de seco que en las de regadío, mientras que para el patotipo ND fue mayor en las parcelas con riego (Figura 36).

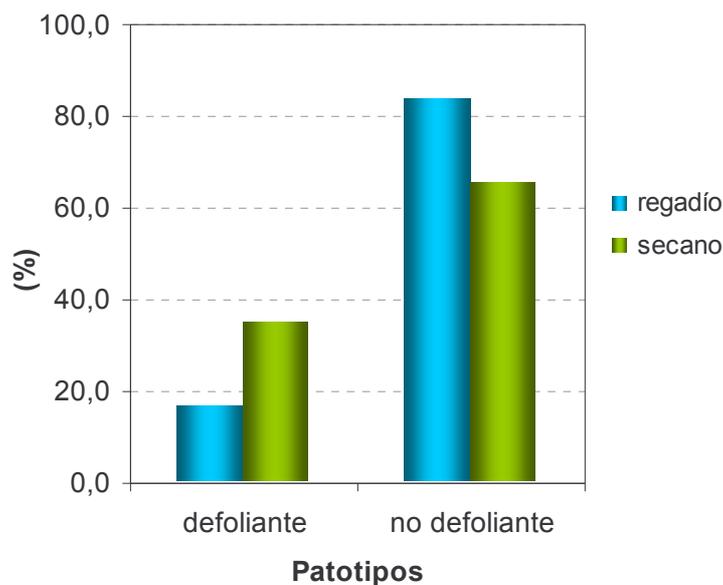


Figura 36. Contribución a la prevalencia de los patotipos ND y D de *V. dahliae* según el régimen de cultivo

Tabla 19. Prevalencia e incidencia de los patotipos de *V. dahliae* según régimen de cultivo en el olivar de la provincia de Granada

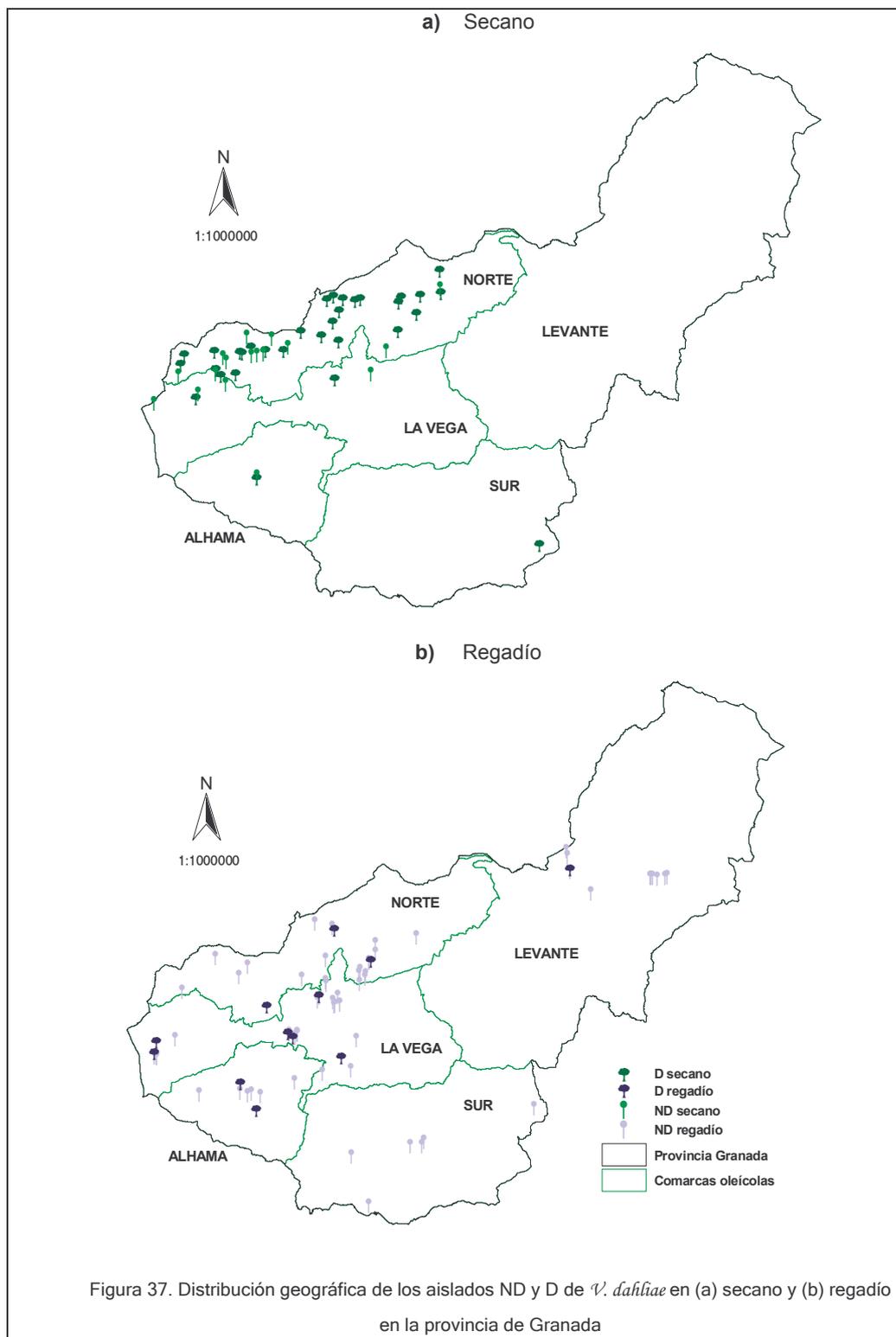
Régimen de cultivo	PATOTIPOS			
	no defoliante		defoliante	
	Prevalencia	Incidencia	Prevalencia	Incidencia
Secano	5,4%	2%	2,9%	1,74%
Regadío	21,4%	2,3%	4,2%	0,8%

La incidencia del patotipo D fue mayor en plantaciones en secano que en las de regadío (Tabla 19). Sin embargo, para el caso de los aislados ND tales diferencias en la incidencia no fueron tan evidentes, registrándose un 2% de olivos enfermos en parcelas en secano y un 2,3% en las de regadío (Tabla 19).

En resumen, en términos relativos, el aislado D fue más importante en parcelas sin riego, donde también infectó a más número de olivos, mientras que el patotipo ND estuvo asociado estadísticamente al regadío, y aunque en menor grado que el aislado D, infectó a más número de olivos en parcelas con riego establecido.

La distribución geográfica de los aislados ND y D de *V. dahliae* varió dependiendo del régimen de cultivo. Se observó que los aislados ND y D cuando están en condiciones de secano presentan una distribución espacial restringida a una determinada área geográfica, concretamente en la parte nor-occidental de la provincia,

mientras que cuando los aislados se encuentran bajo régimen de regadío, dibujan una distribución mucho más homogénea (Figura 37).



3.2.1.2 Comarcas olivareras

La distribución del olivar en regadío fue desigual en las distintas comarcas, dándose un gradiente desde comarcas como la del Norte donde este régimen de cultivo es minoritario, a otras como la del Levante donde es importante. En esta última, las parcelas en regadío supusieron un 89% del total de las parcelas muestreadas, en la del Sur el 66%, en la de Alhama el 34%, en la Vega el 30%, y en la comarca del Norte representó un 15% (Figura 38).

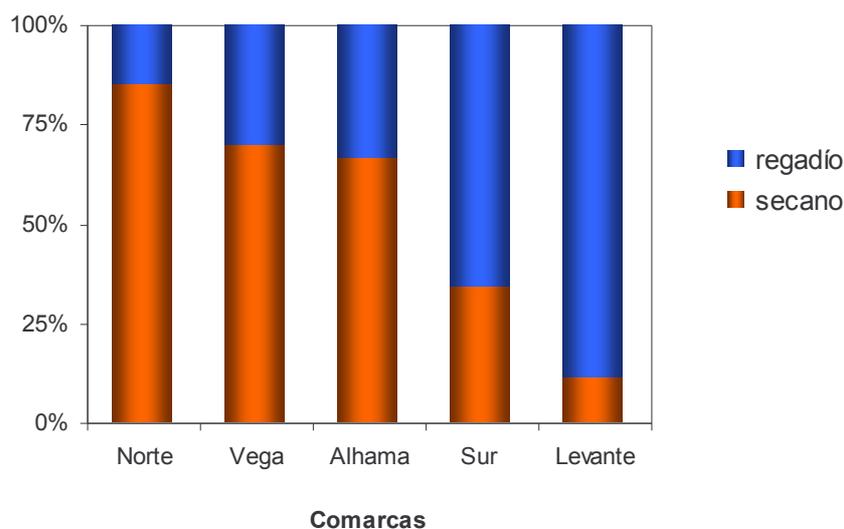


Figura 38. Proporción de parcelas de secano y regadío muestreadas en cada una de las comarcas olivareras granadinas.

El patrón de asociación de la VO al olivar en regadío se cumplió para todas las comarcas olivareras independientemente de cual fuera su proporción de olivar en riego (Figura 39). En la comarca de Levante se contabilizaron positivos solo en las parcelas con regadío.

Se observó de forma general, que se mantenía el mismo patrón de asociación de los patotipos ND al regadío y D al secano, a excepción de la comarca de Levante y del Sur (Figura 40). En el caso del Levante, obviamente ambos patotipos fueron más frecuentes en regadío ya que todos los positivos se obtuvieron en regadío. En el caso del Sur, no se aisló el patotipo D, mientras que el ND tuvo igual frecuencia en ambos sistemas de cultivo. En las comarcas del Norte, la Vega y Alhama los valores de contribución a la prevalencia del patotipo D fueron superiores en secano, con valores

del 30%, 56% y 50% respectivamente, y el patotipo ND fue superior en parcelas con riego con valores de contribución del 86%, 77% y 75% respectivamente (Figura 40).

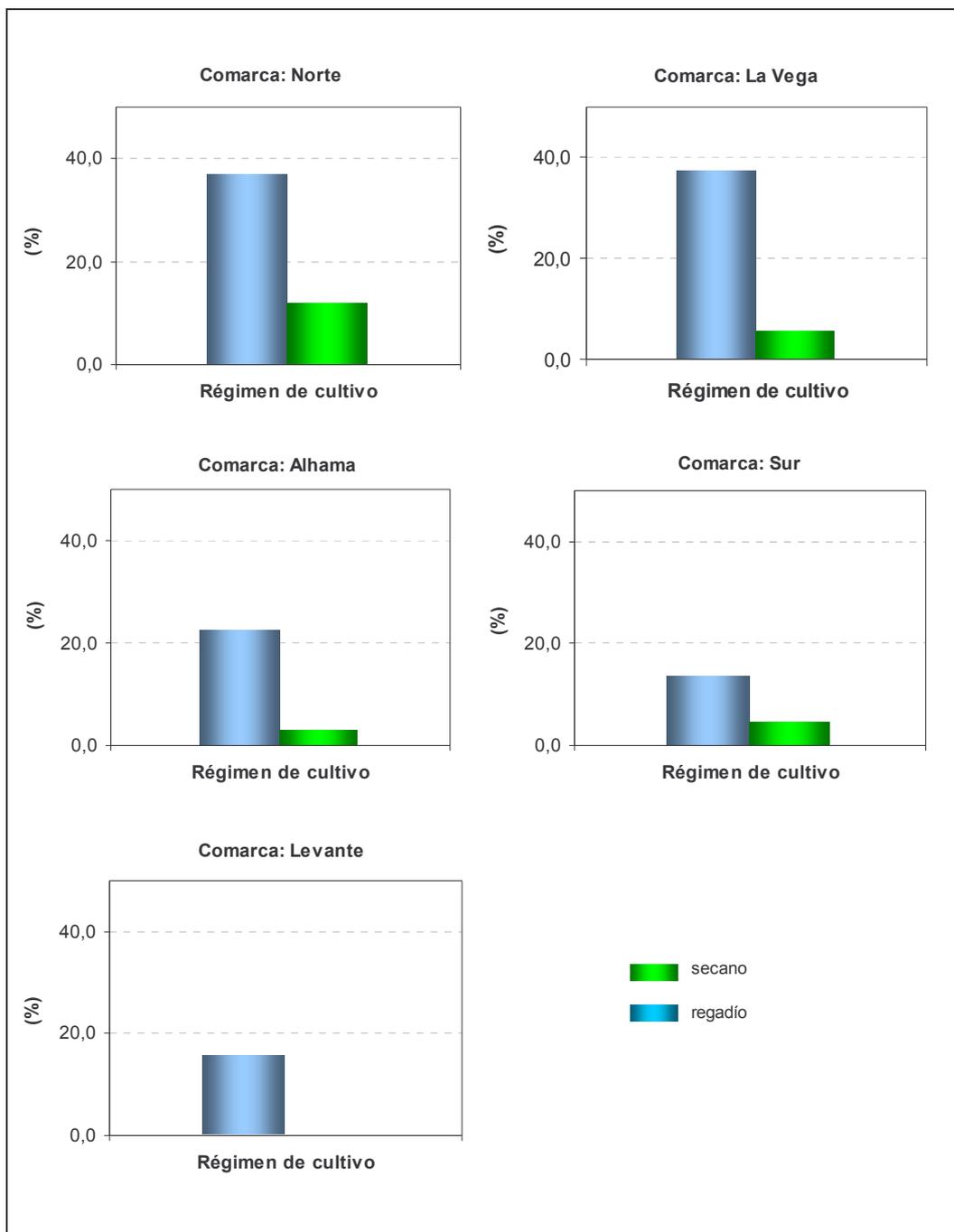


Figura 39. Prevalencia de la VO en cada una de las comarcas oleícolas granadinas según el régimen de cultivo

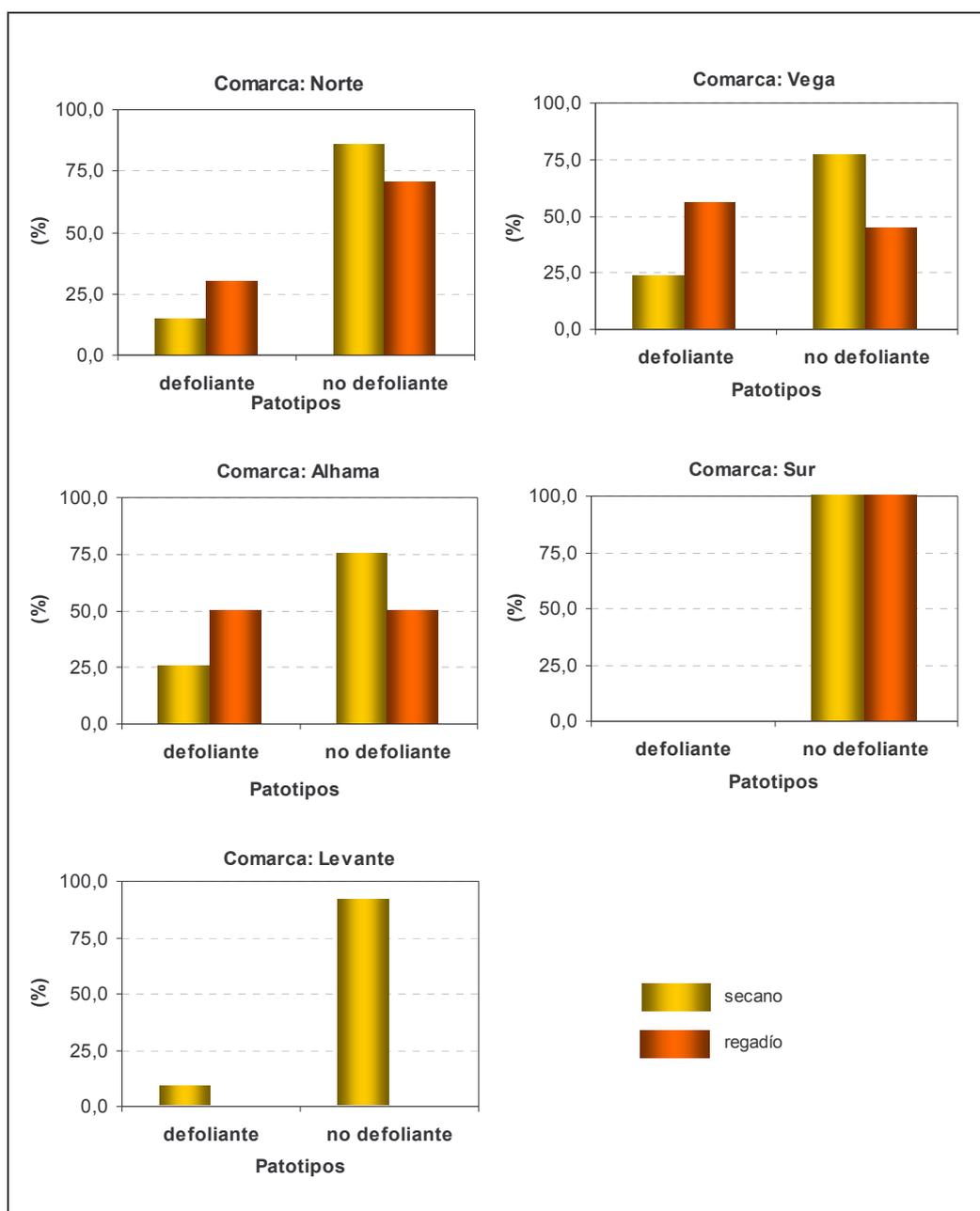


Figura 40. Contribución a los valores de prevalencia de los dos aislados de *V. dahliae*, ND y D, según el régimen de cultivo y en cada una de las comarcas oleícolas granadinas

3.2.2 Densidad media de la plantación (olivos ha)

La densidad media de la plantación, según el olivar muestreado, fue de 139 olivos/ha. Este valor concuerda perfectamente con el registrado para el cultivo del olivo en la provincia de Granada que es de 137,3 olivos/ha según datos de la Unidad Prospectiva DAP, Junta de Andalucía.

En el muestreo abundaron las explotaciones entre los 70 y los 120 olivos/ha, típicos de olivares tradicionales y que supusieron un 36% de la superficie prospectada (Figura 41). Las densidades mayores, entre los 150-300 olivos/ha, representaron un 33% de la superficie. Dentro de este rango se incluyen las plantaciones de olivar intensivo cuya variable más destacada es la alta densidad de plantación, que como media, suele tener unos 214 olivos/ha y que en regadío pasa a ser de 246 olivos/ha. Las densidades comprendidas entre los 125-150 olivos/ha constituyeron un 24% del muestreo, mientras que las densidades bajas y/o extremadamente altas de plantaciones superintensivas de más de 300 olivos/ha estuvieron poco representadas.

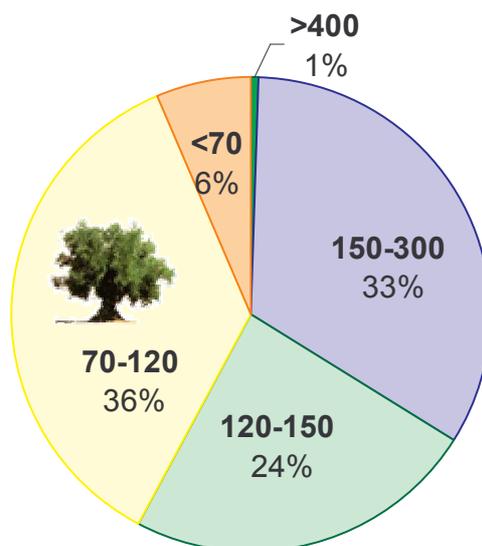


Figura 41. Distribución de las plantaciones del olivar muestreado en la provincia de Granada según la densidad de plantación

La VO se ha encontrado fundamentalmente en parcelas con densidades altas, aumentando los valores de prevalencia a medida que aumentó la densidad de plantación, desde un 1,8% de prevalencia en plantaciones de menos de 70 olivos/ha hasta una prevalencia del 27,3% en plantaciones superintensivas de más de 300 olivos/ha (Figura 42). La densidad media de las plantaciones con positivo para Verticilosis ($d = 163,7$ olivos /ha) fue significativamente mayor que la densidad media de las parcelas sin VO ($d = 135,3$ olivos /ha) ($p < 0,05$ según el test t-Student).

Las altas densidades de plantación son más frecuentes en parcelas de regadío que en secano (Figura 43). La densidad media de plantación del olivar de regadío fue de $d = 175$ olivos/ha frente al valor medio de $d = 124$ olivos/ha en secano. Esto es lógico, ya que normalmente los marcos de plantación del olivar de regadío son más estrechos que los de secano. La prevalencia de la enfermedad coincidió con las altas

densidades y este efecto fue más acusado cuando las plantaciones tuvieron el riego establecido (Figura 44).

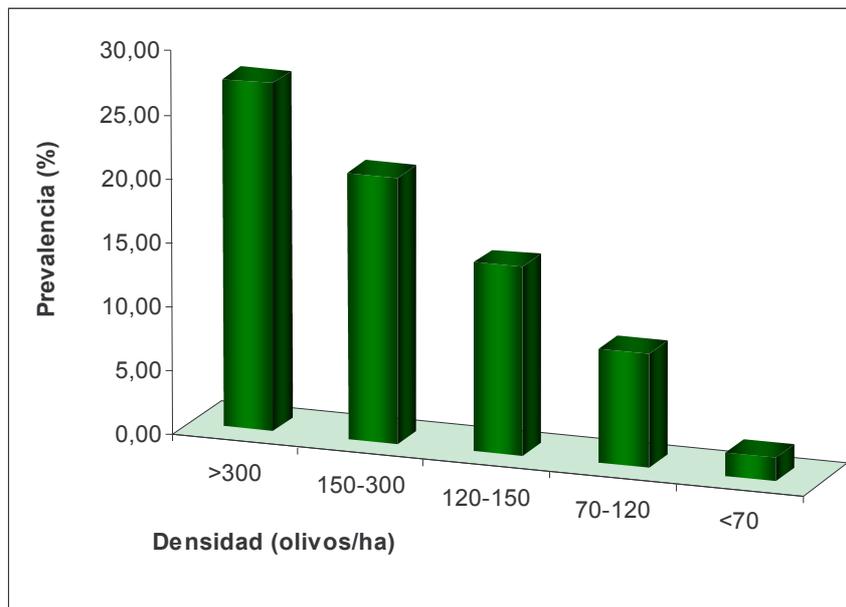


Figura 42. Prevalencia de la Verticilosis del olivo según la densidad de plantación en el olivar de la provincia de Granada

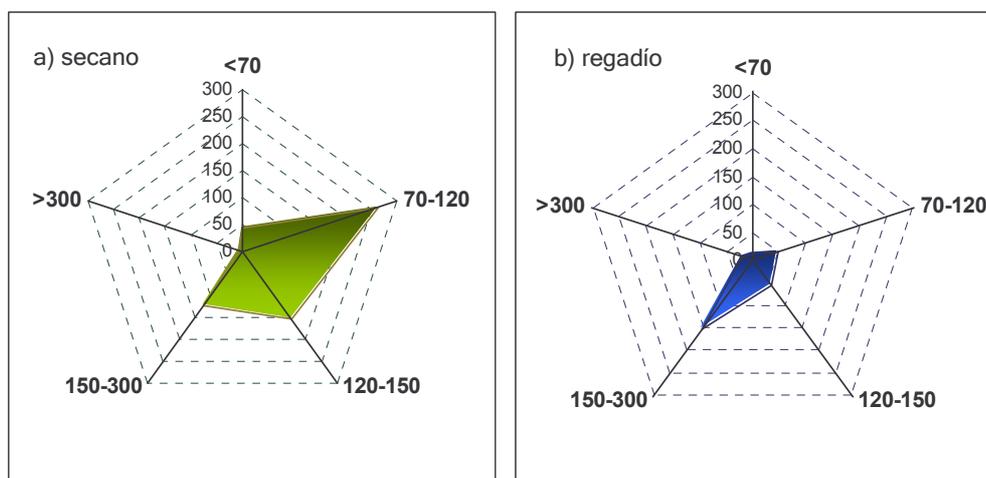


Figura 43. Distribución del olivar granadino en parcelas de a) secano y b) regadío según la densidad de plantación

En cuanto a los valores de incidencia, cuando las parcelas están bajo regadío no hubo olivos enfermos en plantaciones de marcos amplios de <70 olivos/ha (Figura 45). Igualmente, no se observaron olivos enfermos en plantaciones de secano que correspondieran con altas densidades de >300 olivos/ha. De ahí, que la incidencia total

registrada en estos rangos extremos coincide con el valor observado para cada régimen de cultivo, que en el caso particular de las plantaciones intensivas, alcanzó un valor máximo del 9% de olivos enfermos. En el resto de las categorías, no se registraron grandes diferencias entre los valores obtenidos para la incidencia total y los obtenidos para secano y regadío con valores que rondaron entre el 1-3% de olivos enfermos. Tan solo señalar que la incidencia en secano, fue superior entre las categorías de 70-120 y 120-150 olivos/ha, mientras que en regadío, la incidencia fue superior en las parcelas de 150-300 olivos/ha.

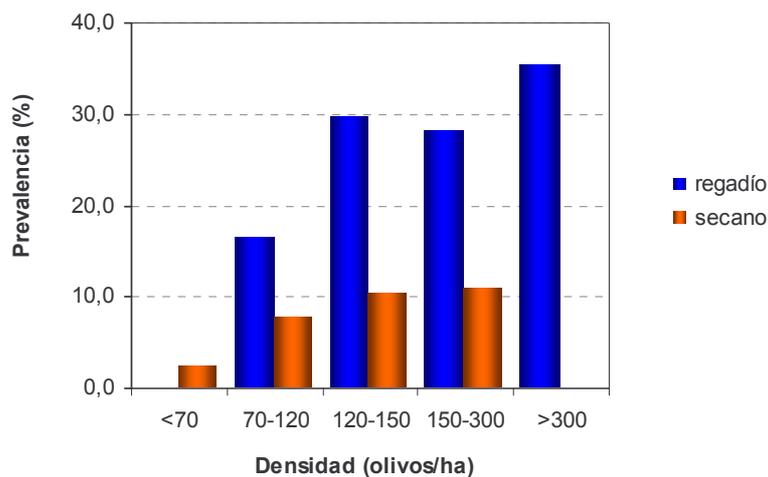


Figura 44. Prevalencia de la Verticilosis del olivo en parcelas de secano y regadío según la densidad de plantación (olivos/ha) en la provincia de Granada

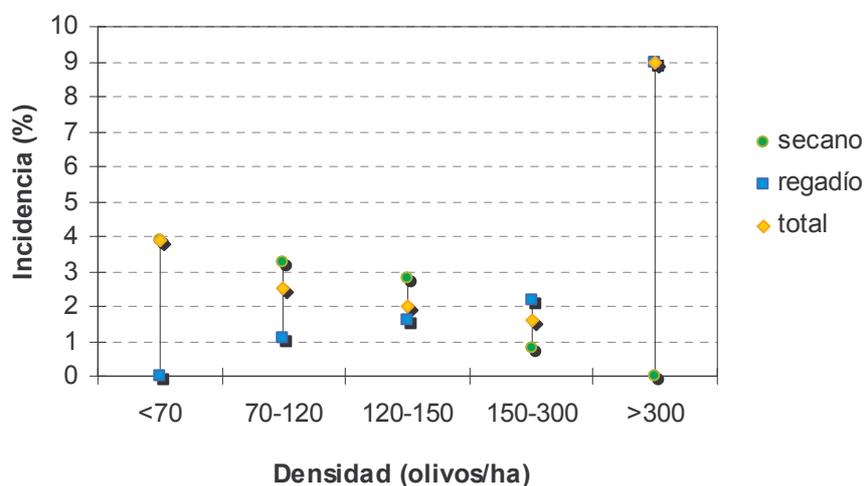


Figura 45. Incidencia total, en secano y en regadío de la VO según la densidad de los olivos en la provincia de Granada

3.2.2.1 Patotipos

El aislado ND mostró un patrón, e incluso valores de prevalencia, similares al observado para la VO en general, siendo este aislado más frecuente a medida que aumenta la densidad de plantación (Figura 46). Sin embargo, el aislado D mostró valores de prevalencia más igualados entre los diferentes rangos de densidad. En resumen, la variable agronómica densidad de plantación tiene un efecto superior sobre el aislado ND que sobre el D.

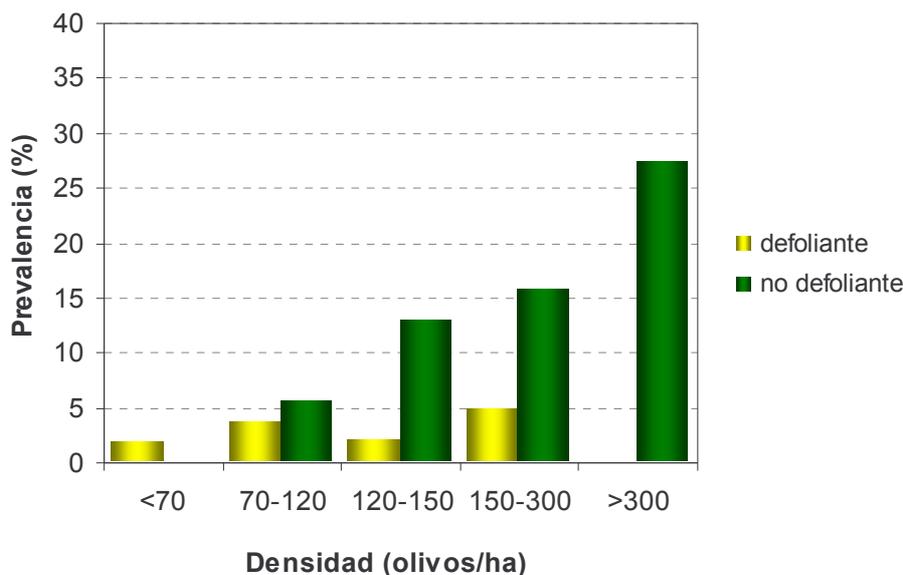
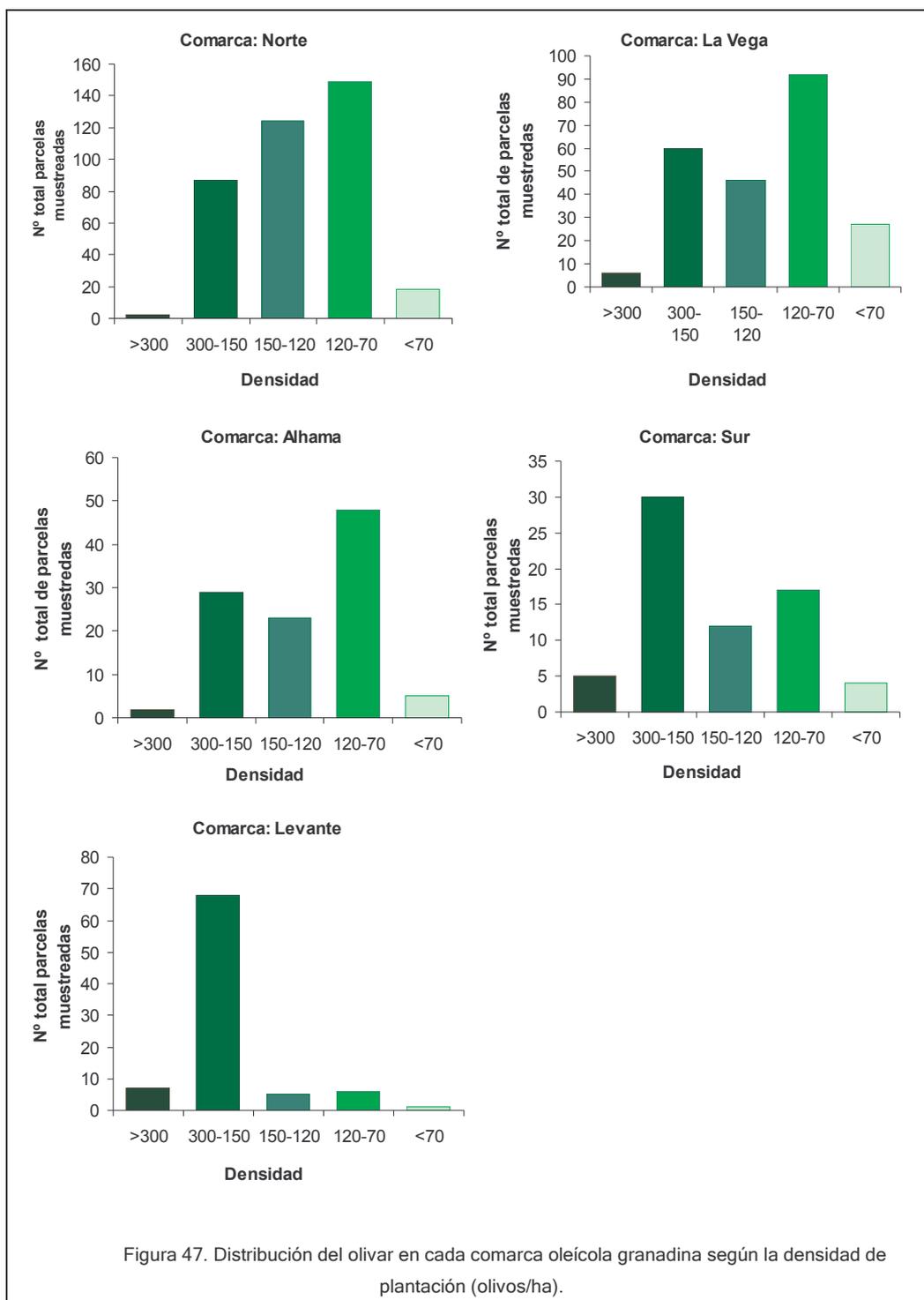


Figura 46. Prevalencia de los aislados ND y D de *V. dahliae* según la densidad de plantación en la provincia de Granada

3.2.2.2 Comarcas

Las cinco comarcas olivareras presentaron diferentes sistemas agrícolas (Figura 47). En la comarca del Norte dominó el olivar tradicional con parcelas de marcos de plantación amplios entre los 70-120 olivos/ha que supusieron un 39% del total del muestreo, mientras que las plantaciones de marcos más estrechos típicos de los olivares intensivos de más de 150 olivos/ha supusieron un 23% (Figura 47). En una fase intermedia se situaron las comarcas de la Vega y Alhama con olivar de marcos amplios pero donde las plantaciones superiores a los 150 olivos/ha ganan importancia. Finalmente, en la comarcas del Sur y Levante dominó el olivar de altas densidades. En el Sur, el olivar con densidad de 150-300 olivos/ha fue mayoritario y la comarca de Levante estuvo únicamente representado por plantaciones de marcos estrechos.



La relación entre densidad de plantación y prevalencia de la enfermedad se observó en todas las comarcas, independientemente de la proporción de olivar intensivo en cada una, a excepción de la comarca de Levante, donde las frecuencias

fueron muy similares (Figura 48). También existe una relación directa entre la densidad de plantación y la incidencia de la misma: hubo más olivos afectados en aquellas comarcas donde la densidad media fue mayor (Tabla 20).

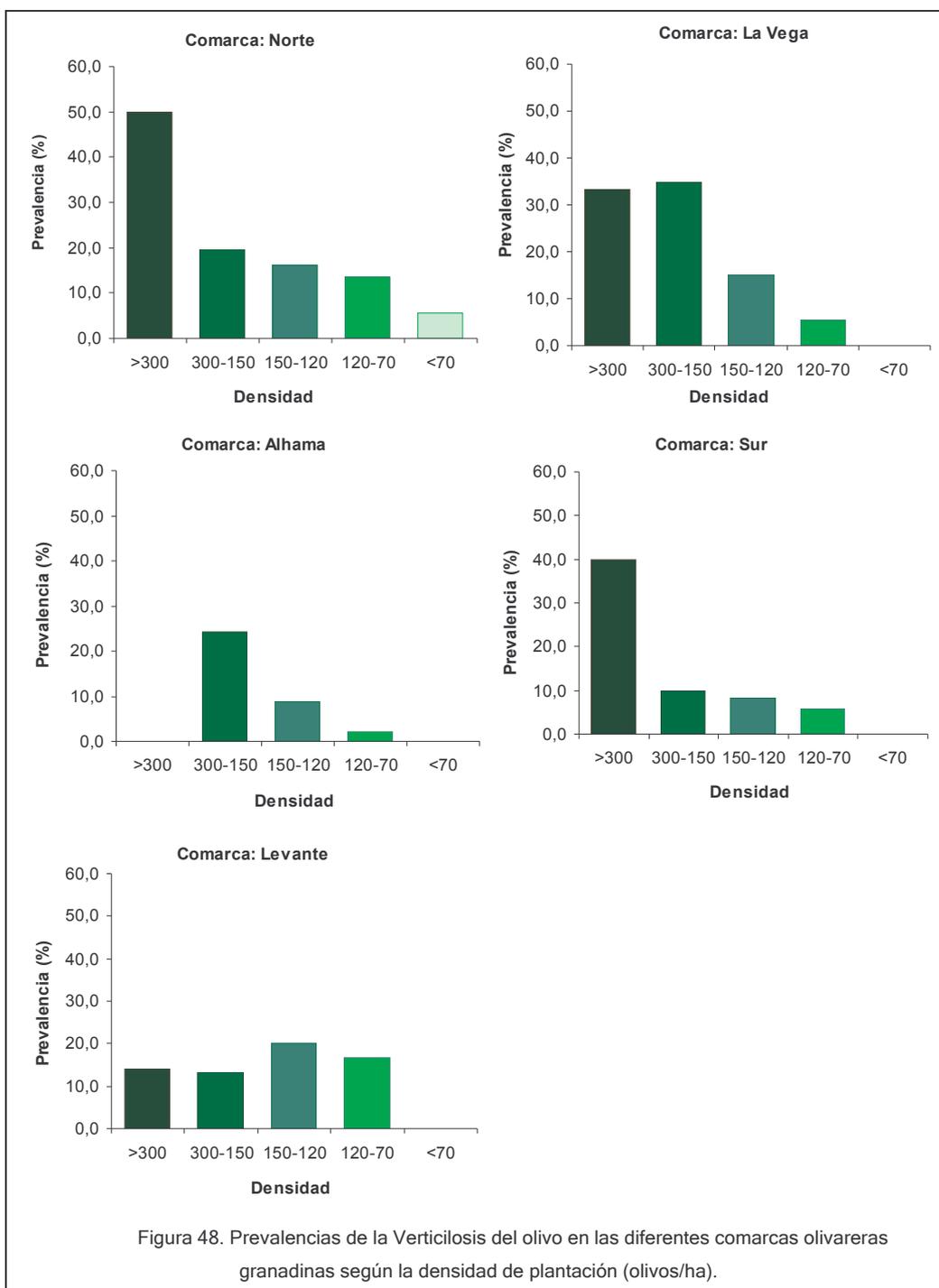


Tabla 20. Incidencia de la Verticilosis del olivo según la densidad media de la plantación en las comarcas granadinas

COMARCAS	DENSIDAD MEDIA	INCIDENCIA (%)
Norte	126,4	2,6
La Vega	131,0	1,3
Alhama	129,7	0,8
Sur	170,4	6,2
Levante	205,1	8,2
TOTAL PROVINCIAL	139,3	1,9

3.2.3 Usos previos del suelo

El tipo de cultivo, especialmente los de regadío, y el tiempo que estos cultivos hayan en un suelo son, entre otros, factores esenciales que determinan la presencia de *V. dahliae* en un suelo. El establecimiento de plantaciones en suelos contaminados por el patógeno, probablemente, haya sido uno de los motivos fundamentales de la extensión de la VO en las nuevas plantaciones de olivar en Andalucía. Por ello, la caracterización cualitativa del suelo es clave para la adecuada evaluación e interpretación de los riegos que pueden mostrar determinadas superficies. La Consejería de Medio Ambiente posee una completa caracterización de los usos y coberturas del suelo de Andalucía desde al año 1999, y han sido utilizados en este apartado para comparar los usos previos del suelo en la provincia de Granada donde se han establecido las nuevas plantaciones de olivar y determinar su relación con la frecuencia de aparición de la VO.

De forma general, los resultados muestran que las mayores tasas de VO se situaron en las superficies cuyo uso tradicional es el de regadío, seguidas de las superficies en secano y por último en superficies donde se han situado espacios naturales (Tabla 21).

3.2.3.1 Patotipos

En general se observa que el patotipo D estuvo asociado con usos anteriores de secano como son olivar, herbáceos en secano, y mosaico de leñosas con cultivos en secano. Por otro lado, el patotipo ND fue más frecuente en usos del suelo de cultivos en regadío, típicos huéspedes de *V. dahliae* (Tabla 21)

Un análisis más detallado, completándose la información del uso del suelo con la información obtenida de las encuestas agrícolas, indica que (Tabla 21):

La mayor prevalencia de VO se encontró en olivares donde el uso anterior del suelo coincidió con Cultivos herbáceos en regadío (P = 56,4%). En este tipo de suelos

el patotipo más asociado fue el ND mientras que el patotipo D constituyó solo el 14%. Los principales cultivos anteriores al olivar fueron hortalizas como patata, remolacha, haba, pimiento, tomate y ajo, además de tabaco, alfalfa, maíz y espárrago.

A continuación, destacaron con una frecuencia de aparición del 33,3% las tierras catalogadas como Mosaicos de cultivos en secano y regadío. En este caso, el patotipo asociado fue exclusivamente ND. Se trata de suelos dedicados principalmente a cultivos como girasol, hortalizas, cereales, y leguminosas como garbanzo, lenteja, veza, entre otras.

Los suelos con formaciones de Matorral o pastizal con o sin arbolado de quercineas aparecieron con una prevalencia del 30%. En este caso el patotipo presente fue ND y los cultivos asociados se corresponden con olivar, cereal, y pasto arbustivo.

En el caso de los usos de Cultivos leñosos con mosaico en regadío se registró una prevalencia del 27,1%, en su mayoría se asociaron al patotipo ND, observándose la menor prevalencia del patotipo D (P=9%). Estos suelos se corresponden especialmente con leñosas donde se intercalaba regadío y que ahora han sido plantados con olivos jóvenes. Como cultivos leñosos encontramos el olivo, almendro, o asociación de ambos, algo menos de melocotonero, cerezo y naranjo, mezclados con cultivos herbáceos en regadío como hortalizas de todo tipo, por ejemplo, melón, sandía, tomate, haba, pimiento, patata, leguminosas forrajeras como alfalfa, maíz, además de cañaveral. También esta presente algo de cereal como cebada y trigo.

Los Cultivos herbáceos en secano presentaron un 15,6% de prevalencia y en este caso, el porcentaje del patotipo D aumentó a un 30%. Anteriormente, el suelo fue ocupado por cereales en secano. Estos cultivos no son susceptibles a la Verticilosis a excepción del cultivo del garbanzo.

Los Cultivos leñosos en secano registraron un 10,6% de prevalencia y una mayor frecuencia del patotipo D del 27%. Los cultivos leñosos en secano constituyen parcelas de leñosas con cultivos intercalares de secano que se han sustituido por olivos jóvenes. Como cultivo leñoso se sitúa el olivo principalmente seguido del almendro, y en pequeña proporción higueras y vides. Como cultivos en secano destaca el cereal, legumbres como el garbanzo, girasol, espárrago y veza.

En las Superficies en regadío no regadas se observó un 8,3% de prevalencia. Solo se determinó el patotipo ND. Estas superficies se corresponden con suelos dedicados a cereal y legumbres.

Por último, destacar que las tierras dedicadas tradicionalmente al Olivar fueron las más numerosas con más de 1.900 ha prospectadas y se registro una incidencia del 7,5%. Sin embargo, fue el uso donde se observó la mayor frecuencia de afectación por

el patotipo D con un porcentaje del 46%. Como usos anteriores además de olivar destacan especialmente cereal y legumbres.

Tabla 21. Valores de Prevalencia de la VO y contribución de los patotipos ND y D a dicho valor, en base a los usos y coberturas del suelo previas en la provincia de Granada

	Prevalencia	Superficie	Patotipos	
	(%)	(ha)	ND	D
SUPERFICIES AGRICOLAS				
Superficies en Regadío				
Cultivos leñosos y mosaicos en regadío	27,1	60	91%	9%
Cultivos herbáceos en regadío	56,4	212	86%	14%
Superficies en Secano				
Cultivos leñosos y mosaicos en secano	10,6	887	73%	27%
Olivares	7,5	1915	54%	46%
Cultivos herbáceos en secano	15,6	611	70%	30%
Áreas agrícolas heterogéneas				
Mosaicos de cultivos en secano y regadío	33,3	161	100%	-
Mosaicos de cultivos con vegetación natural	4,2	51	100%	-
Superficies en regadío no regadas	8,3	101	100%	-
SUPERFICIES FORESTALES Y NATURALES				
Matorrales dispersos	0	19	-	-
Formaciones de pastizal y matorral con o sin arbolado de quercineas	30	38	100%	-
Espacios naturales con escasa vegetación	0	22	-	-
Formaciones arboladas densas de otras frondosas y mezclas	0	14	-	-

Información obtenida a partir del mapa de Usos del suelo y coberturas vegetales en Andalucía 1999 (CMA) Junta de Andalucía.

3.2.3.2 Comarcas olivareras

En las comarcas del Norte y de la Vega, los mayores valores de prevalencia, de más del 50%, estuvieron relacionados con las superficies en regadío (Tabla 22. I, II). Concretamente, en la del Norte la prevalencia de la VO fue también considerable en los usos en secano, mientras que en la de la Vega, lo fue en superficies forestales. En la comarca de Alhama, por el contrario, los mayores valores de VO se situaron en parcelas antes situadas sobre tierras forestales (Tabla 22.III). El patotipo D es más abundante en parcelas dedicadas tradicionalmente al secano en el caso de las comarcas de la Vega y de Alhama, y en el olivar en el caso particular de la comarca del Norte. El patotipo ND está más relacionado en estas tres comarcas con dedicadas anteriormente a superficies forestales, áreas agrícolas heterogéneas y superficies en

regadío. En la comarca del Sur, la VO solo se registró en suelos dedicados a cultivos en secano y en los cultivos en regadío, donde se contabilizó una prevalencia del 10% y del 18% respectivamente. En esta comarca solo se detectaron aislados ND (Tabla 22. IV). En la comarca de Levante, la mayor prevalencia de Verticilosis fue en suelos donde se situaban áreas agrícolas heterogéneas seguidas de superficies en regadío. En ambos usos, los aislados detectados fueron ND. Los aislados D quedaron para los usos anteriores de secano que registraron la menor prevalencia (Tabla 22. V).

Tabla 22. Valores de prevalencia de la Verticilosis del olivo y contribución de los patotipos ND y D a dicho valor en función de los usos del suelo en cada comarca oleícola de la provincia de Granada

Tabla 22.I: COMARCA DEL NORTE

Uso	Prevalencia (%)	Patotipos	
		ND	D
<i>Sup. forestales y naturales</i>	11	100	-
<i>Áreas agrícolas heterogéneas</i>	11	100	-
<i>Olivar</i>	9,7	62	38
<i>Superficies en secano</i>	26,5	83	17
<i>Superficies en regadío</i>	54	100	-

Tabla 22.II: COMARCA DE LA VEGA

Uso	Prevalencia (%)	Patotipos	
		ND	D
<i>Sup. forestales y naturales</i>	17	8,5	-
<i>Áreas agrícolas heterogéneas</i>	-	4	-
<i>Olivar</i>	12	46	46
<i>Superficies en secano</i>	8	8,5	27
<i>Superficies en regadío</i>	59	33	27

Tabla 22.III: COMARCA DE ALHAMA

Uso	Prevalencia (%)	Patotipos	
		ND	D
<i>Sup. forestales y naturales</i>	33	100	-
<i>Áreas agrícolas heterogéneas</i>	-	-	-
<i>Olivar</i>	9,1	75	25
<i>Superficies en secano</i>	8,6	60	40
<i>Superficies en regadío</i>	-	-	-

Tabla 22.IV: COMARCA DEL SUR

Uso	Prevalencia (%)	Patotipos	
		ND	D
<i>Sup. forestales y naturales</i>	-	-	-
<i>Áreas agrícolas heterogéneas</i>	-	-	-
<i>Olivar</i>	-	-	-
<i>Superficies en secano</i>	10	100	-
<i>Superficies en regadío</i>	18	100	-

Tabla 22.V: COMARCA DEL LEVANTE

Uso	Prevalencia	Patotipos	
		ND	D
<i>Sup. forestales y naturales</i>	-	-	-
<i>Áreas agrícolas heterogéneas</i>	22	100	-
<i>Olivar</i>	-	-	-
<i>Superficies en secano</i>	5,6	-	100
<i>Superficies en regadío</i>	16,7	100	-

3.2.4 Procedencia del material vegetal

Uno de los factores clave de aparición de Verticilosis del olivo en las nuevas plantaciones en suelos no agrícolas, o recientemente roturados, o donde no consta el cultivo anterior de plantas susceptibles a la enfermedad, es la utilización de material de plantación contaminado por el patógeno. Es posible además que aparte de la planta, el patógeno pueda encontrarse en el sustrato empleado para su producción. Por otro lado, dado que el aislado D es menos frecuente que el ND y que en los últimos 5-10 años se ha extendido desde la parte occidental de Andalucía, donde se sabe que estaba confinado, a zonas olivareras distantes del sureste español, entre ellos la provincia de Granada, es importante estudiar el papel que ha jugado el desarrollo de la industria viverística ubicada fuera de la provincia de Granada en el avance de la VO y su patotipo D, altamente virulento. Por ello, es de gran interés estudiar la relación entre la prevalencia de la VO en las parcelas oleícolas y el origen de sus plantones de olivo.

Un 52,7% de los olivares prospectados tienen sus olivos producidos por enraizamiento de estacas leñosas procedentes de las ramas de poda de olivares adultos (Figura 49). Este tipo de plantaciones se corresponden en su mayoría con olivares antiguos obtenidos mediante este método antiguo de multiplicación. No obstante, un 4% de estas parcelas se han plantado a partir de olivos jóvenes, manteniendo este método tradicional de multiplicación. Un 30% de las parcelas con

olivar joven han adquirido los plantones en viveros. Un 5,3% de las parcelas utilizan ambos procedimientos, con olivos adultos obtenidos mediante el método tradicional mezclados con olivar joven obtenido de vivero. Finalmente, los propietarios desconocían la procedencia del material vegetal en un 12% de las parcelas.

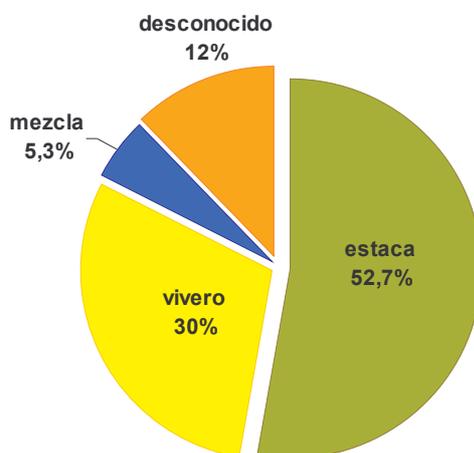


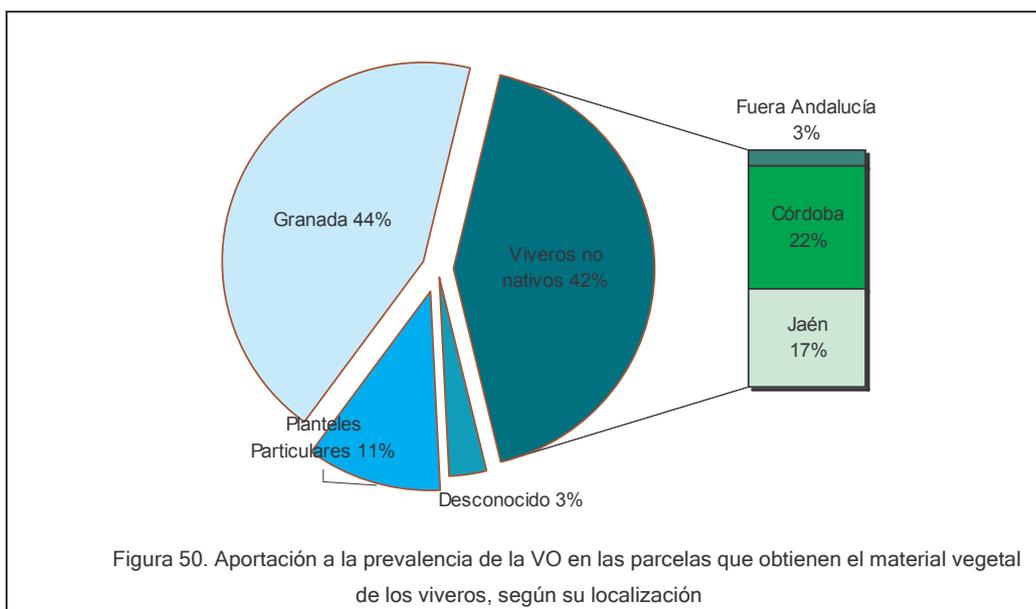
Figura 49. Procedencia del material vegetal de las parcelas oleícolas granadinas incluidas en el muestreo

Hay una relación estadística entre la procedencia del material vegetal y la Verticilosis del olivo ($X^2= 32,591$ p valor asociado $< 0,05$). La mayor frecuencia de esta enfermedad coincidió con aquellas parcelas cuyas plantas proceden íntegramente de vivero o están dobladas, con parte de su olivar en renovación y procedente de vivero. Los valores más bajos de enfermedad se registraron en las parcelas cuyos olivos fueron obtenidos mediante el método tradicional (Tabla 23). Por último, en las plantaciones de origen desconocido se determinó una prevalencia del 13,2%. Sin embargo, no se obtuvo asociación estadística de los dos aislados de *V. dahliae* frente a los viveros ($X^2= 2,516$ p valor asociado $> 0,05$). Así, la proporción de los patotipos resultó muy similar entre los diferentes sistemas de obtención de plantones, sólo cuando el origen del material vegetal es desconocido la prevalencia del patotipo D es ligeramente superior, e inferior cuando el origen es a partir de estaca (Tabla 23).

Tabla 23. Prevalencia de la VO según la procedencia del material vegetal en la provincia de Granada

ORIGEN MATERIAL VEGETAL	PREVALENCIA (%)	CONTRIBUCIÓN POR PATOTIPOS (%)	
		ND	D
Desconocido	13,2	71,4%	28,6%
estaca	8,5	76,9%	20,5%
Vivero	24,5	75,8%	24,2%
Dobladas	17,4	75,0%	25,0%

El estudio del origen del material vegetal en aquellas parcelas donde los plantones proceden de vivero y donde se ha detectado VO, ha permitido determinar que existe una estrecha relación entre la VO y las parcelas que se nutren a partir de viveros tanto nativos como de viveros situados fuera de Granada, concretamente de Jaén y Córdoba, lo que pone de manifiesto la importancia que supone los viveros no nativos en la renovación de los olivares granadinos (Figura 50).



3.2.4.1 Comarcas olivareras y patotipos

Los resultados de prevalencia según el origen del material vegetal variaron entre las diferentes zonas (Figura 51). Por un lado, se situaron las comarcas donde las plantaciones a partir de viveros registraron los mayores valores de VO y fueron Sur (P =23%), Alhama (P =18%) y Levante (P =26%). En esta última, la prevalencia en las parcelas cuyos olivos procedían de estacas aumentó su valor a un 19%.

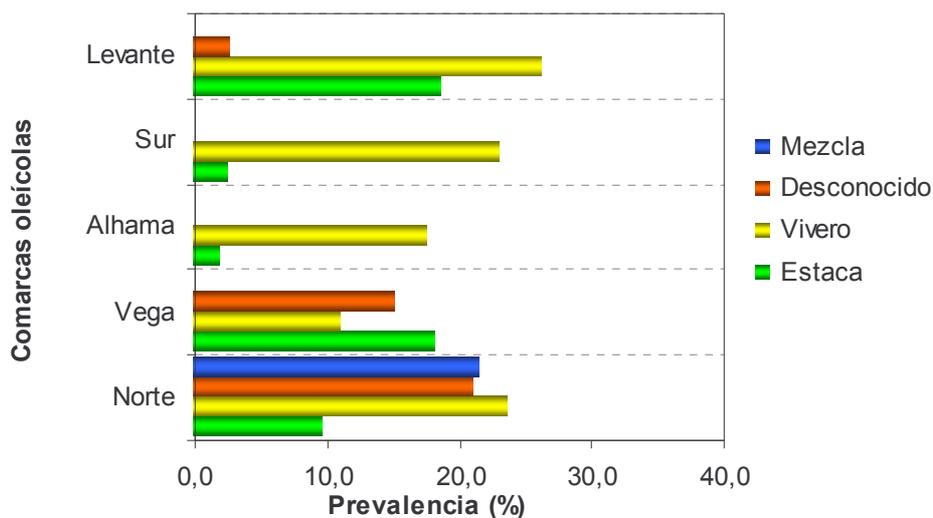
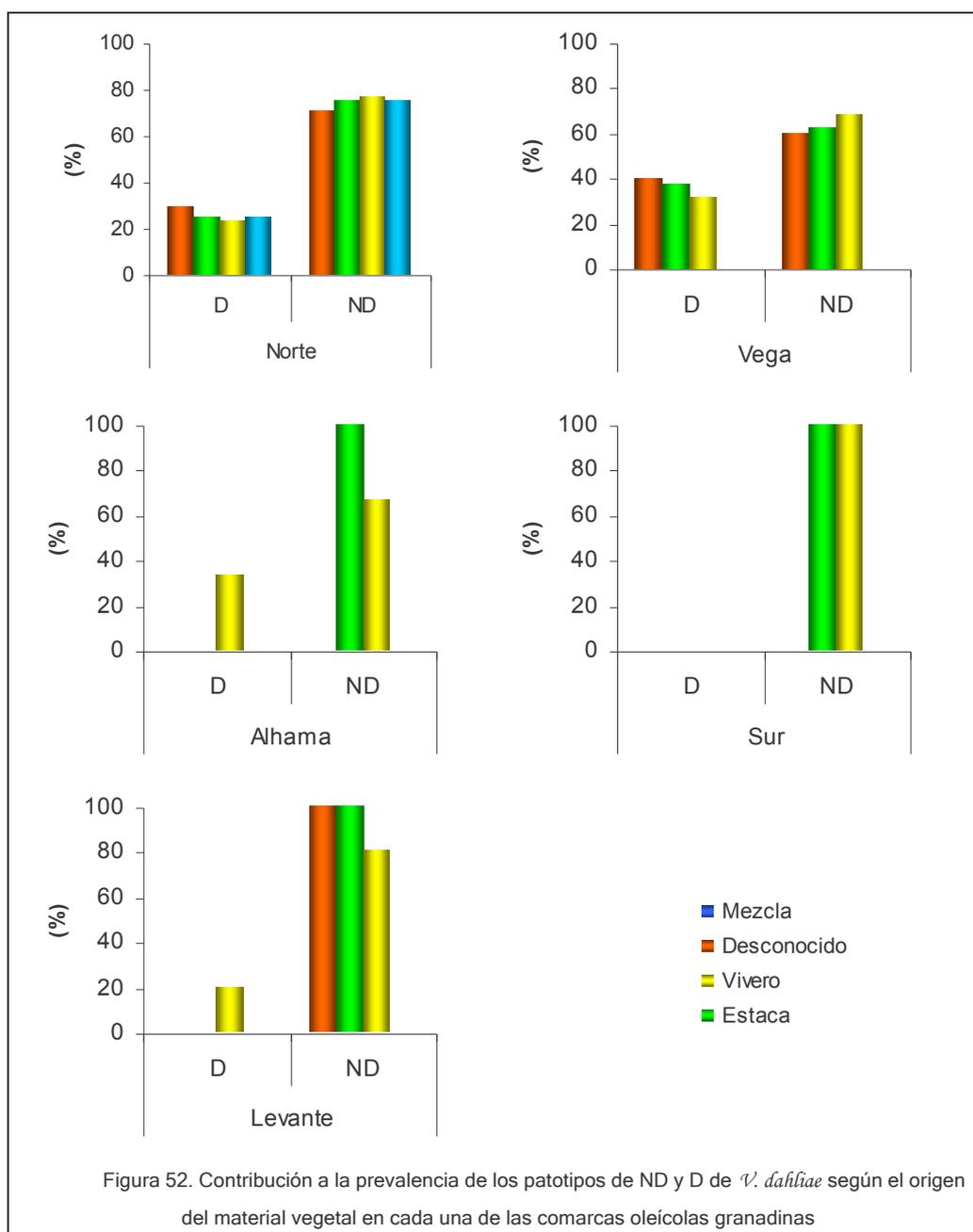


Figura 51. Prevalencia de la VO según la procedencia del material vegetal en cada una de las comarcas oleícolas granadinas

Por el contrario, en la comarca de la Vega, la mayor tasa de positivos se registró en las parcelas cuyo material vegetal se obtenía a partir de estaca ($P = 18\%$), seguidas de las de origen desconocido, siendo las parcelas que utilizaban los viveros las que registraron una menor prevalencia ($P = 11\%$). Finalmente en la comarca Norte es donde únicamente aparecen las parcelas dobladas como plantaciones afectadas y registraron valores de prevalencia similares a las que el material procedía de origen desconocido. Tan solo las parcelas que utilizaban estaca propia registraron un valor menor del 10%. En resumen, el uso de material vegetal procedente de viveros ha estado asociado con la frecuencia de aparición de la VO en las zonas de Alhama, Sur y Levante, mientras que en la Vega y en menor medida en el Norte esta frecuencia se iguala sugiriendo otras posibles vías de entrada del patógeno.

Si observamos la procedencia de los plantones en función de las comarcas, pero teniendo en cuenta el patotipo de los aislados, vemos que los resultados se repiten o siguen una tendencia similar a lo anteriormente explicado. En las zonas del Norte y de la Vega, ambos patotipos tuvieron frecuencias muy similares independientemente de cual haya sido el origen del árbol. En las comarcas de Alhama y del Levante se observa la asociación del aislado virulento a los viveros, mientras que la vía de entrada del aislado ND es más bajo por vivero. En la comarca del Sur, donde no se detectó el patotipo D, la frecuencia de los aislados ND se repartió por igual entre el origen a partir de estaca o de vivero (Figura 52).



3.2.5 Las variedades de olivo

Las variedades de olivos prospectadas por orden de importancia según la superficie ocupada fueron: Picual con un 65%, Hojiblanca, con un 18%, y Picudo y Lechín de Granada con un 4% cada una (Figura 53). La variedad Lucio constituyó un 2% del muestreo y Arbequina un 1%. El Registro Oleícola Español (ROE) ha catalogado como Otras variedades a un grupo genérico de parcelas en las que no se

especifica su variedad, debido a su diversidad y que poseen un peso relativo reducido. Otras variedades representaron un 3% al igual que las parcelas multivarietales con olivar antiguo de variedades características de la zona mezclado con olivos nuevos de variedades más productivas como Hojiblanca, Picual o Arbequina (Figura 53).

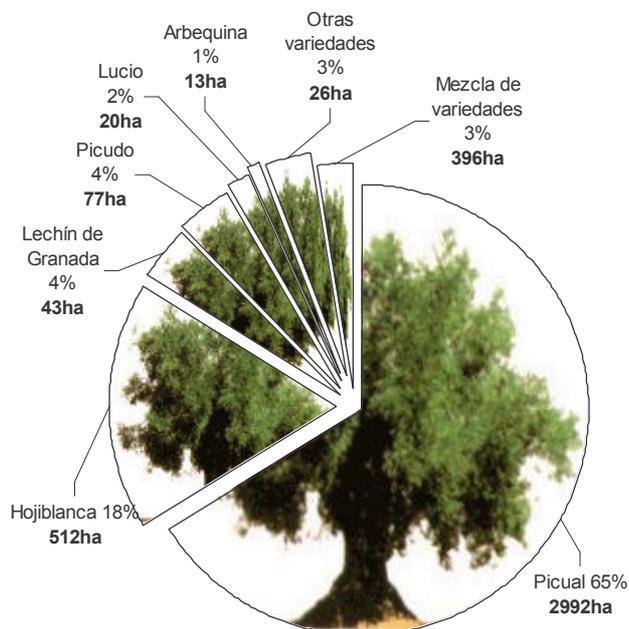


Figura 53. Porcentaje de variedades de olivo prospectados en la provincia de Granada

No se observaron diferencias en la prevalencia de la VO entre las diferentes variedades de olivo ($\chi^2 = 6,51$ p-valor $0,888 > 0,05$). Las afectaciones se distribuyeron de forma homogénea entre los diferentes cultivares, por lo que las discrepancias observadas son debidas a la aleatoriedad (Figura 54). Los valores de prevalencia estuvieron comprendidos entre el 8% de la variedad Lechín de Granada y el 16% que se registró en las parcelas con variedad Picual. Otras variedades locales tuvo una prevalencia del 13%, seguida de Arbequina y Picudo con cifras similares, y en menor grado Hojiblanca. No se detectaron parcelas afectadas por VO donde la variedad presente era Lucio (Figura 54).

3.2.5.1 Patotipos

En el caso del patotipo ND, su valor de contribución a la prevalencia en la variedad Picual fue ligeramente superior a los medios provinciales que fueron del 76% para el aislado ND y del 24% para el aislado D. El valor de aportación para el patotipo D fue superior para la variedad Hojiblanca. Cultivares como Lechín y Arbequina solo se afectaron por el patotipo ND. Es destacable que tanto la variedad Picudo como Otras

variedades locales se afectaron más por el patotipo D, registrando porcentajes de contribución del 50% (Figura 55).



Figura 54. Prevalencia de la VO en las diferentes variedades prospectadas en la provincia de Granada

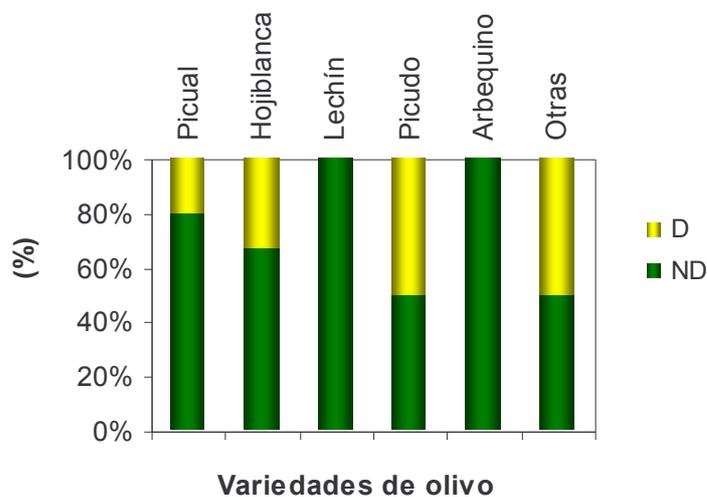


Figura 55. Aportación de los aislados ND y D de *V. dahliae* obtenidos para los diferentes cultivares estudiados en la provincia de Granada

3.2.5.2 Variedad y edad de los olivos

En la actualidad, el olivar sigue siendo un cultivo sometido a cambios. Entre otros, se estudian los períodos de entrada en producción de los olivos y se seleccionan nuevas variedades más productivas y mejor adaptadas a las nuevas condiciones de un cultivo más moderno. Hasta ahora, esto ha determinado que algunas variedades como Picual, Hojiblanca o Arbequina, se cultiven actualmente en numerosas plantaciones jóvenes, fuera de sus supuestas zonas de origen.

Por ello, es de gran interés estudiar la estructura varietal de los olivos en función de la edad y su relación con la VO (Figura 56). En primer lugar, se ha determinado que la edad y la variedad de los olivos son dos variables que están asociadas entre sí estadísticamente ($\chi^2 = 84,731$ p valor asociado $<0,05$). Así, mientras el cultivar Picual es más numeroso en olivares de nueva plantación, cultivares como Picudo o Lechin de Granada lo son en las plantaciones más antiguas (Figura 56).

Por otro lado, si se observa la prevalencia de la VO por rangos de edad y en función de los cultivares, resultando que la prevalencia depende de la edad de los olivos y no de la variedad de los mismos. La enfermedad es más prevalente en plantaciones jóvenes entre los 8-12 años de edad, algo menos en olivos de menos de 7 años, y poco prevalente en el resto de los estratos, independientemente de la variedad (Figura 56).

3.2.5.3 Comarcas olivareras

La composición varietal de los olivares en cada comarca es diferente como consecuencia lógica de una selección local de los árboles con las cualidades más sobresalientes.

Las variedades principales fueron Picual, Hojiblanca y Lechin de Granada, siendo mayoritarias en ciertas comarcas. La variedad Picual fue la más importante en tres de las cinco comarcas olivareras estudiadas. Así en la comarca del Norte, supuso el 81% del muestreo, en la comarca de Alhama el 57% y en la comarca del Levante la totalidad (Figura 57). Hojiblanca fue la variedad más importante en la comarca de la Vega, componiendo el 52% del muestreo. En cuanto a Lechín de Granada, es un cultivar restringido únicamente a la comarca del Sur donde fue la variedad más importante representando un 45% del olivar muestreado (Figura 57).

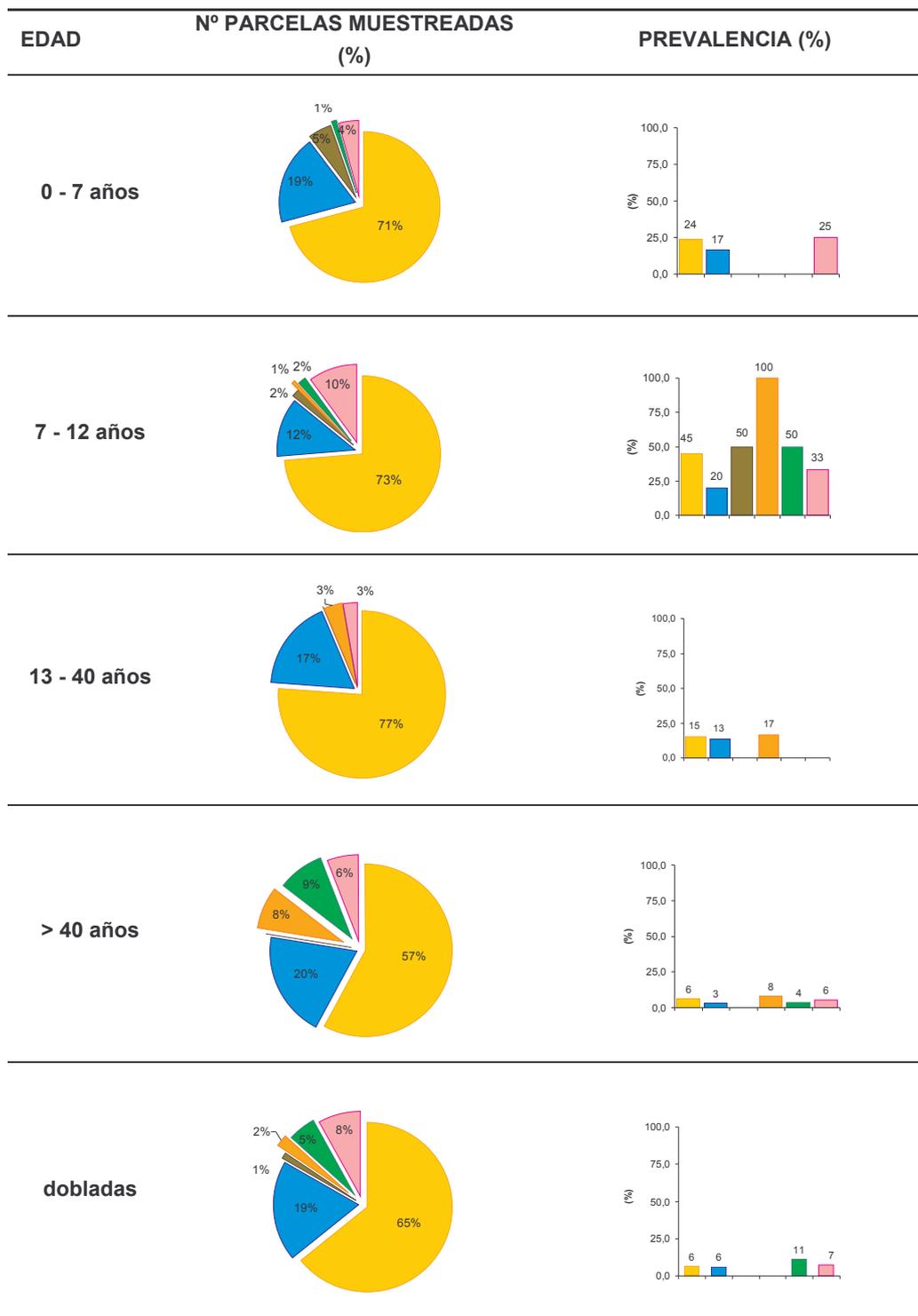


Figura 56. Distribución de las variedades más importantes según la edad de los olivos y prevalencia de la VO en cada caso en la provincia de Granada

■ Picual
 ■ Hojiblanca
 ■ Arbequina
 ■ Picudo
 ■ Lechín
 ■ Otras

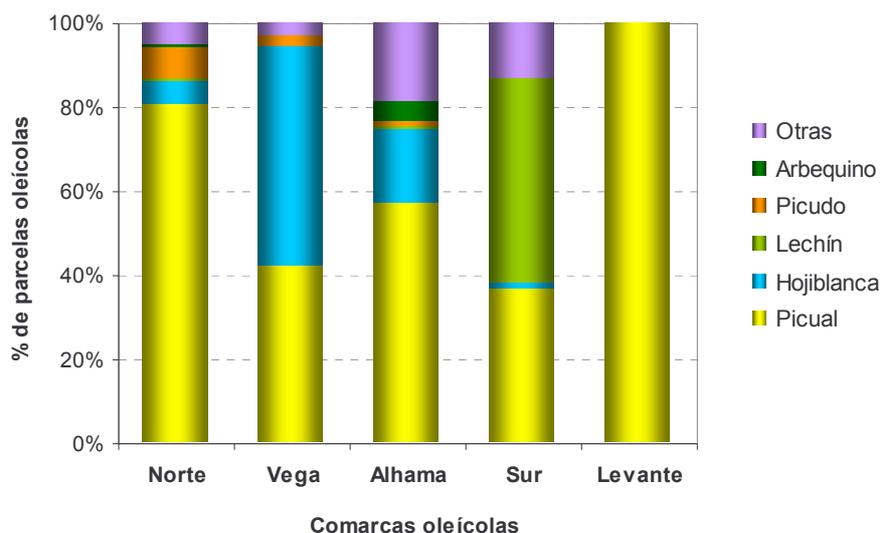


Figura 57. Composición de variedades de olivo para cada comarca oleícola granadina

El resto de las variedades estudiadas fueron localmente importantes. Picudo solo estuvo presente en tres comarcas: la del Norte con un 7% del muestreo, la de la Vega con un 3% y la de Alhama con un 2% (Figura 57). Arbequina estuvo solo representada en la comarca de Alhama donde representó el 7%, y en el Norte, donde supuso un porcentaje muy bajo que no llegó al 1%. Finalmente, Otras variedades fueron más representativas en comarcas como la de Alhama (18%) y la del Sur (13%), siendo menos numerosas en la del Norte (5%) y en la de la Vega (3%). Una característica principal en la zona de Alhama es el cultivo de diferentes variedades dentro de una misma parcela. Es una práctica antigua realizada por los agricultores, en parte por la mejora de la polinización del olivo y en parte con el fin de amortiguar la vecería del olivar.

Con respecto a la prevalencia de la VO, los resultados comarcales corroboran los datos obtenidos a nivel provincial aunque, algunos datos varían dependiendo de la zona, de forma que determinados cultivares con valores de prevalencia altos en una comarca, no lo presentan en otras (Figura 58).

Resultados similares se obtuvieron en el caso del análisis de la severidad (Tabla 24). En la variedad Picual el patógeno provocó niveles de severidad del rango 2-3 aproximadamente en todas las comarcas. Para esta variedad, el aislado ND causó la aparición de plantas muertas en la comarca del Sur, sin embargo, no aparecieron árboles muertos en las comarcas de Alhama y Levante a pesar de que el aislado D estuvo presente.

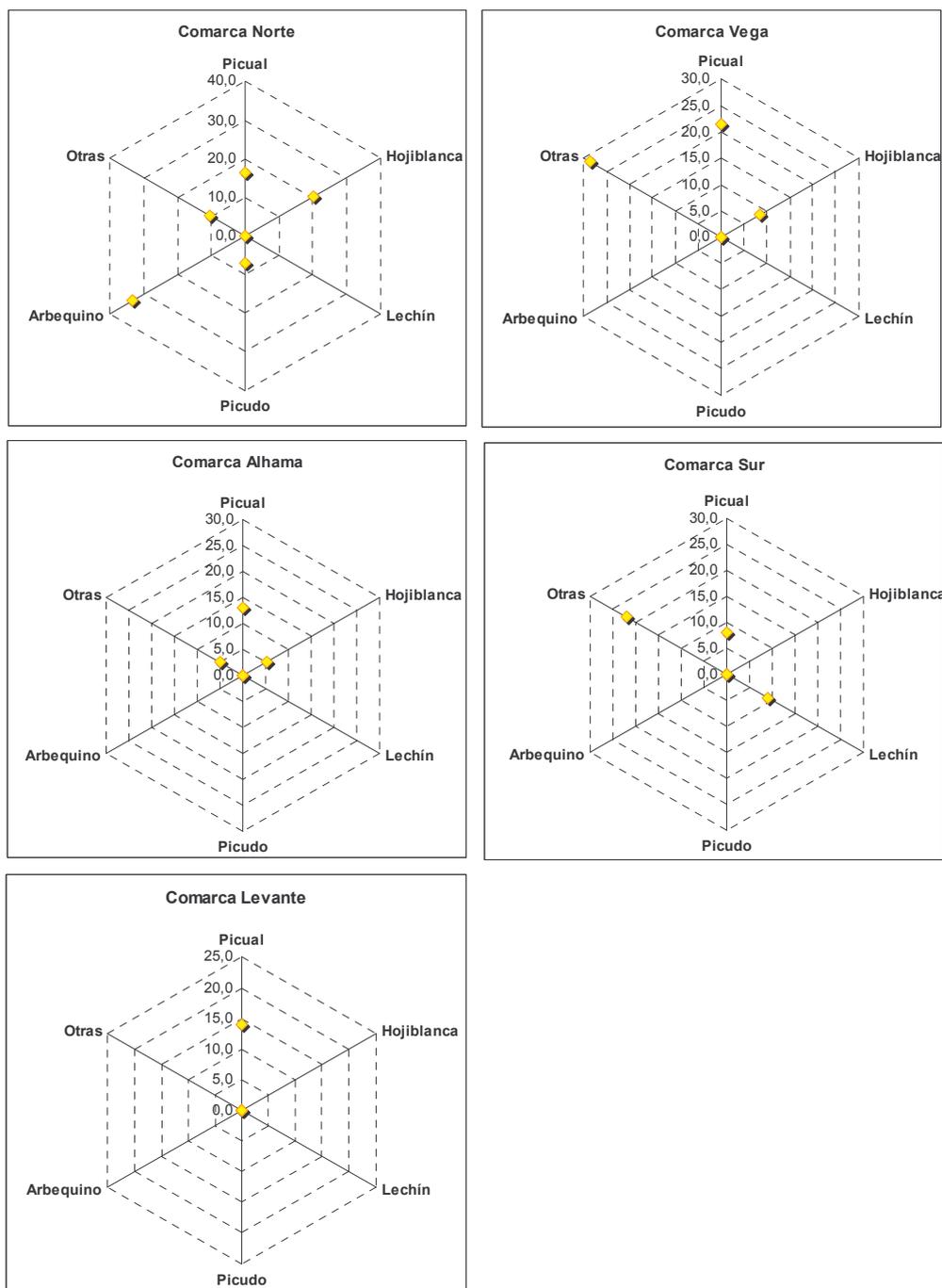


Figura 58. Prevalencia (%) de la VO en función de la variedad en cada comarca oliverera granadina

Los niveles de severidad registrados para la variedad Hojiblanca fueron muy similares independientemente del aislado en las tres comarcas donde estuvo presente,

que fueron por orden de importancia, Vega, Alhama y Norte. La Variedad Picudo mostró nivel de severidad 3 causado por el patotipo D en la comarca de la Vega, mientras dichos niveles fueron inferiores en la comarca del Norte a pesar de que los árboles estaban infectados por el patotipo más virulento. La variedad Lechín de Granada mostró niveles de severidad bajos causados exclusivamente por el patotipo D en la comarca del Sur. Finalmente, el patotipo ND causó niveles bajos de severidad en todas las variedades locales prospectadas, mientras que el patotipo D provocó ataques más severos en las variedades locales de la comarca del Norte que en las variedades locales de la comarca de Alhama.

Tabla 24. Severidad de la VO y de sus patotipos en función de las variedades presentes en cada comarca oleícola granadina

TABLA 24.I: VARIEDAD PICUAL

SEVERIDAD	Norte	Vega	Alhama	Sur	Levante
Nivel 1	14%	28,6%	-	-	8%
Nivel 2	40%	19,1%	63%	50%	75%
Nivel 3	38%	47,6%	37%	25%	17%
Nivel 4	8%	4,8%	-	25%	-
Proporción de patotipos	80% ND 20% D	71% ND 29% D	75% ND 25% D	100% ND -	92% ND 8% D

TABLA 24.II: VARIEDAD HOJIBLANCA

SEVERIDAD	Norte	Vega	Alhama	Sur	Levante
Nivel 1	-	10%	-	-	-
Nivel 2	50%	50%	100%	-	-
Nivel 3	50%	40%	-	-	-
Nivel 4	-	-	-	-	-
Proporción de patotipos	100% ND -	50% ND 50% D	100% ND -	- -	- -

TABLA 24.III: VARIEDAD PICUDO

SEVERIDAD	Norte	Vega	Alhama	Sur	Levante
Nivel 1	50%	-	-	-	-
Nivel 2	50%	-	-	-	-
Nivel 3	-	100%	-	-	-
Nivel 4	-	-	-	-	-
Proporción de patotipos	- 100% D	100% ND -	- -	- -	- -

TABLA 24.IV: VARIEDAD LECHÍN

SEVERIDAD	Norte	Vega	Alhama	Sur	Levante
Nivel 1	-	-	-	67%	-
Nivel 2	-	-	-	33%	-
Nivel 3	-	-	-		-
Nivel 4	-	-	-		-
Proporción de patotipos	-	-	-	100% ND	-

TABLA 24.V: VARIEDAD OTRAS VARIEDADES

SEVERIDAD	Norte	Vega	Alhama	Sur	Levante
Nivel 1	-	100%	100%	-	-
Nivel 2	-	-	-	100%	-
Nivel 3	50%	-	-	-	-
Nivel 4	50%	-	-	-	-
Proporción de patotipos	-	100% ND	-	100% ND	-
	100% D	-	100% D	-	-

3.2.6 Edad de la plantación

El número total de parcelas prospectadas en función del rango de edad de los olivos fue diferente (Figura 59). En esta figura, el tamaño de la burbuja indica los valores de prevalencia, así, a mayor frecuencia de aparición de la enfermedad mayor tamaño de la burbuja. En general, se observa que el olivar adulto de más de 40 años fue el más numeroso y contabilizó unas 311 parcelas. Las explotaciones dobladas, con parte de su olivar en renovación, junto con las parcelas con olivos comprendidos entre los 13 y los 40 años fueron el segundo tipo más abundante, registrándose un total de 173 y 172 parcelas respectivamente. El resto de explotaciones con edades entre los 8 y los 12 años sumaron unas 121 parcelas y, finalmente, las plantaciones constituidas íntegramente de olivos en nueva plantación de menos de 7 años, fueron las menos numerosas contabilizando unas 96 parcelas.

Existen diferencias significativas entre la prevalencia de la enfermedad en las distintas plantaciones por edad de olivar ($X^2 = 105,42$ p valor asociado $< 0,05$), observándose más enfermedad cuanto menor es la edad media de la parcela. Las plantaciones de 8-12 años fueron las más afectadas por la VO seguidas de las plantaciones de menos de 7 años (Figura 59). La frecuencia de la enfermedad va disminuyendo a medida que aumenta la edad, mientras que en las plantaciones dobladas la frecuencia vuelve a crecer ligeramente.

El olivar en regadío es más frecuente en las nuevas plantaciones, donde se persigue la obtención de una mayor productividad y donde el aumento de los rendimientos del olivar está íntimamente relacionado con el riego. Por otro lado, la Verticilosis del olivo se asocia a las nuevas plantaciones en regadío. En el muestreo realizado, la proporción de olivar joven de menos de 7 años en regadío, que representó un 60% de las plantaciones, fue mayor que la de secano (Figura 60). A medida que el olivar es más maduro, abundan las explotaciones en secano, disminuyendo las de regadío. Se mantiene la proporción de olivar en regadío en plantaciones con olivos de 13 años hasta las de más de 40 años de edad, contabilizando un 10% del muestreo. No obstante, este hecho se ha producido gracias a la transformación en regadío de una importante superficie cultivada de olivar adulto en secano. En cuanto a las explotaciones dobladas donde se introduce olivar joven, la proporción de olivar en secano disminuye, transformándose en regadío.

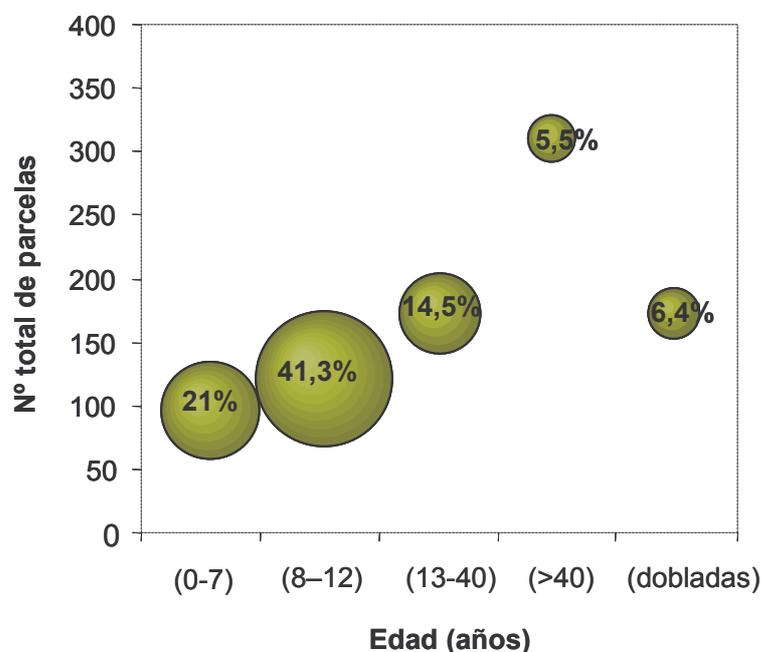


Figura 59. Parcelas prospectadas en la provincia de Granada según los rangos de edad de los olivos y prevalencia de la enfermedad (tamaño de la burbuja) dentro de cada rango de edad

La prevalencia de la enfermedad (Figura 61), fue siempre superior en las parcelas con riego, independientemente del rango de edad. Sin embargo, los valores tuvieron la misma tendencia tanto en parcelas de secano como en las de regadío, y en ambos tipos de cultivo se mantuvo el patrón general observado, resultando las

plantaciones con olivos entre los 8-12 años las más afectadas. En el caso de las plantaciones con olivos muy jóvenes de menos de 7 años, las principales parcelas afectadas son las de regadío.

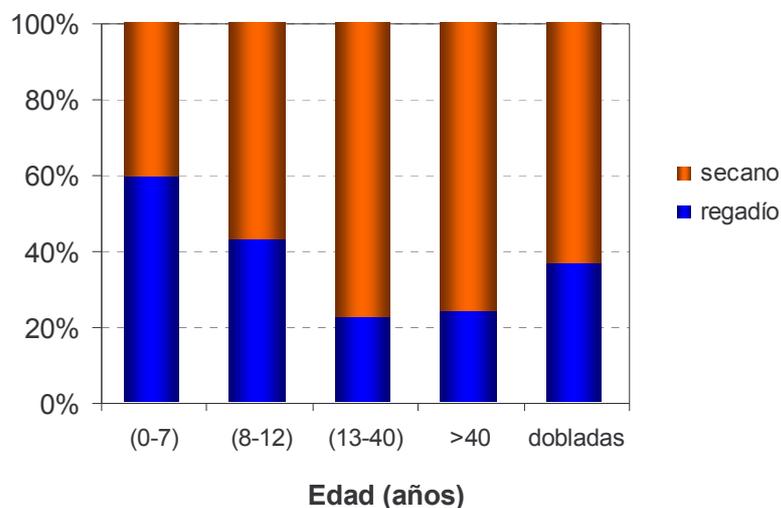


Figura 60. Distribución del olivar granadino en parcelas de secano y regadío según la edad de la plantación

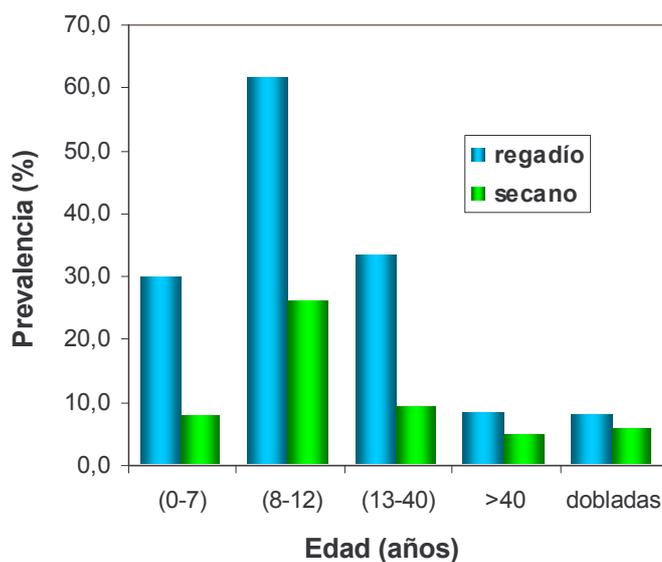


Figura 61. Prevalencia de la VO, en secano y regadío, según los distintos rangos de edad de la plantación en la provincia de Granada

La incidencia de la enfermedad fue mayor en olivos jóvenes que en los adultos. Los valores fueron similares en olivos jóvenes de 0-7 años y de 8-12 años (Figura 62).

La incidencia baja a medida que el olivar es más adulto y aumenta en las plantaciones dobladas.

Si tenemos en cuenta el régimen de cultivo en el análisis de incidencia, se observa que en las plantaciones en regadío, el patrón seguido es similar a la incidencia media. Así, la incidencia es mayor en olivos jóvenes, es algo superior en olivos entre 8-12 años que en adultos y aumenta hacia un valor máximo en las plantaciones dobladas. Sin embargo, los resultados obtenidos para las plantaciones en secano son muy diferentes (Figura 62). La incidencia de la enfermedad es mínima en olivos muy jóvenes, aumenta en olivos de 8-12 años y alcanza el valor más alto en los árboles de 13-40 años de edad, baja en los olivos más antiguos y sube nuevamente en los olivares doblados.

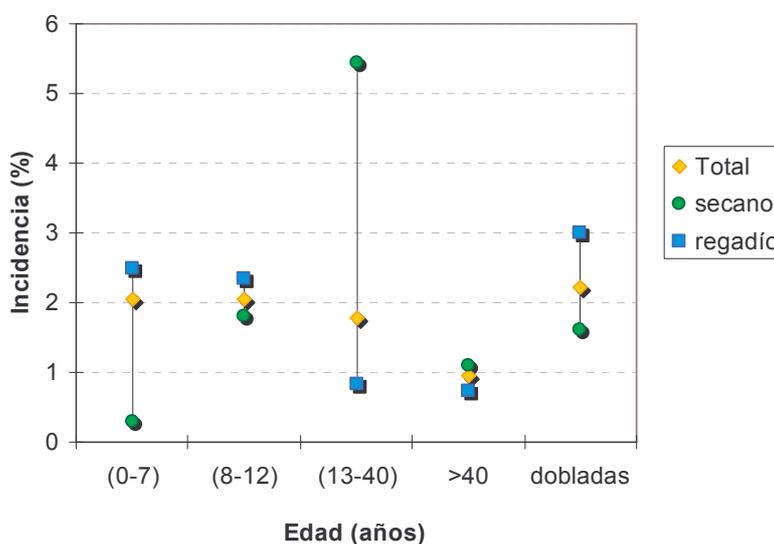


Figura 62. Incidencia total de la VO, en secano y en regadío, según edad del olivar granadino

3.2.6.1 Patotipos

El porcentaje de cada patotipo difiere en función de los rangos de edad, y hay una asociación estadística entre la edad de los olivos y el patotipo presente ($\chi^2=14,258$ p valor asociado =0,007) (Figura 63). En los árboles de 13 a 40 años la proporción de patotipos es la esperada con valores proporcionales del 74% para el ND y del 26% para el D. Sin embargo, en olivos más jóvenes hay una proporción ligeramente superior del patotipo ND, mientras que resulta destacable, la alta frecuencia de aislamiento del patotipo más virulento en árboles adultos de más de 40 años (Figura 63).

3.2.6.2 Comarcas olivareras

Como se ha visto en el punto 3.2.6 la mayor parte del olivar granadino esta constituido por olivar adulto, lo cual queda reflejado también en cada una de sus comarcas (Figura 64). Sin embargo, la proporción de olivar joven es distinto en función del crecimiento que haya experimentado el cultivo en cada una de ellas. Si consideramos como olivar joven a los olivos entre los 0 y los 12 años, podemos observar que de las cinco comarcas, la del Norte fue la que contabilizó menos olivar joven, seguidas de las comarcas de La Vega y del Sur, que mostraron proporciones similares, tras ellas se encuentran la comarca de Alhama y finalmente, la del Levante, que fue la que más ha renovado su olivar.

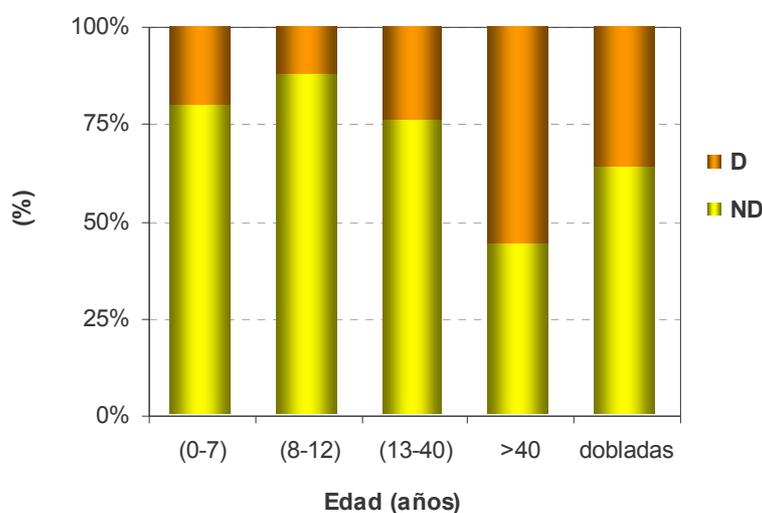


Figura 63. Proporción de los aislados ND y D de *V. dahliae* en cada uno de los rangos de edad de los olivos de la provincia de Granada

A pesar de que las proporciones fueron diferentes, la frecuencia de aparición de la VO fue superior en las plantaciones jóvenes, especialmente en las comprendidas entre los 8-12 años, seguidas de las de menos de 7 años (Figura 65). Esto es especialmente evidente en la comarca del Norte, donde a pesar de que el olivar joven de menos de 12 años no representó más del 18%, la VO queda casi restringida a este rango.

En la comarca de Levante, la prevalencia fue superior en los olivos de menos de 7 años. Esto responde a lo observado en la figura 24, ya que en la comarca del Levante, el 100% de estas plantaciones son de regadío. Finalmente, es destacable la prevalencia registrada en las parcelas dobladas del Sur, que fueron las más afectadas

por la enfermedad, como consecuencia de la renovación del olivar estructurado en bancales.

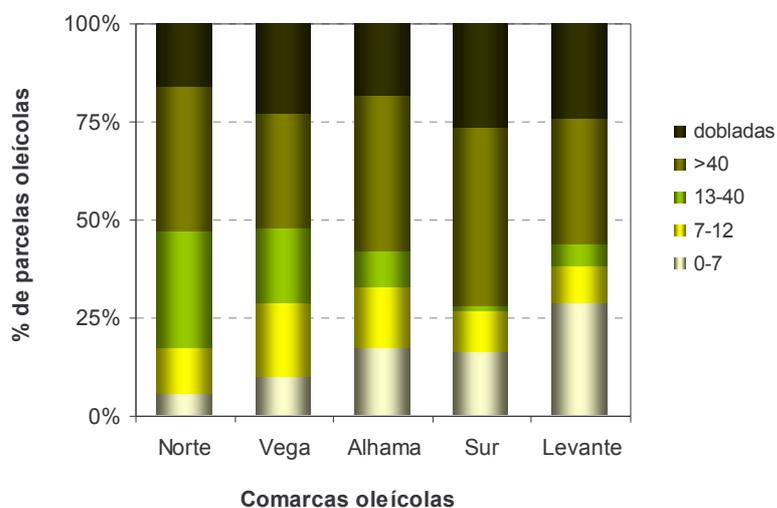


Figura 64. Proporción de las parcelas muestreadas según los rangos de edad en cada comarca olivarera granadina

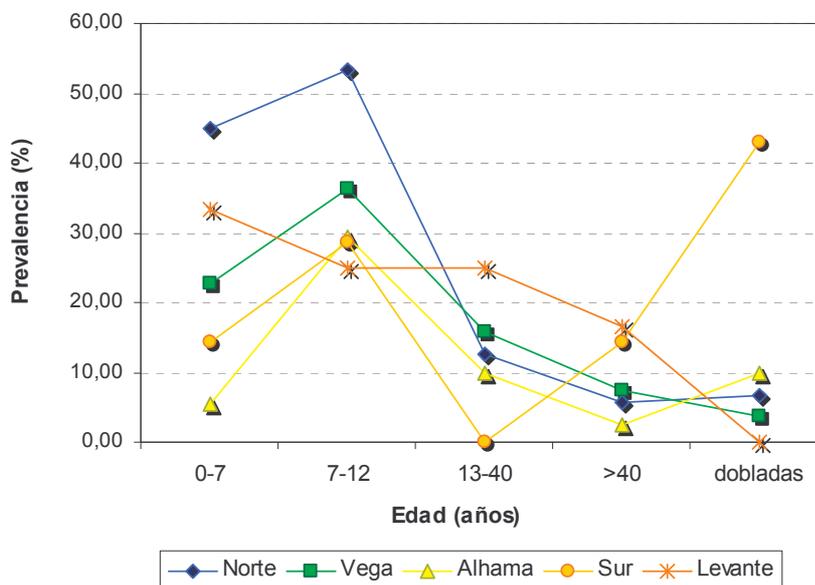


Figura 65. Prevalencia de la VO en cada comarca olivarera granadina en función de la edad

3.3 MAPAS DE ESCALAMIENTO ÓPTIMO

Los mapas de escalamiento óptimo sirven para ver las relaciones entre variables categóricas resumidas en un único gráfico de fácil interpretación. En este caso, los gráficos contienen información sobre: los usos previos del suelo, la procedencia del material vegetal, el régimen de cultivo, y el diagnóstico positivo- negativo para la VO. Con este procedimiento, queda en evidencia de manera más perceptible el grado de relación entre las categorías de cada variable. Cuando el grado de asociación es alto, éstas aparecerán en el mapa perceptual o diagrama relativamente juntas. Por lo tanto estos gráficos constituyen realmente una recapitulación y una interpretación de los datos obtenidos hasta ahora .

3.3.1 Comarca del Norte

El “positivo” queda en la dimensión de la derecha y en el cuadrante inferior junto con “vivero” (Figura 66). Por lo tanto, estas variables están relacionadas entre sí. A su vez ambas están asociadas, aunque en menor medida, con la categoría “usos previos del suelo en regadío”. Lo mismo se puede interpretar para el “negativo”, que queda situado a la izquierda de la gráfica, y muestra una mayor asociación con parcelas donde tradicionalmente se sitúa el olivar en seco, y con material vegetal procedente de estaca (Figura 66).

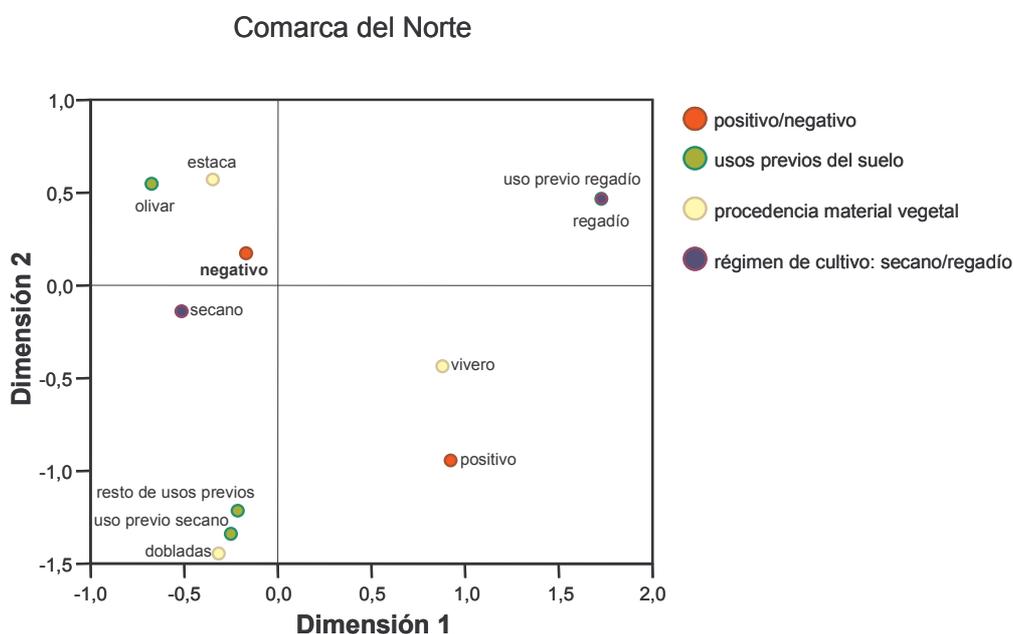


Figura 66. Mapa de escalamiento óptimo para la comarca olivarera granadina del Norte

La variable “vivero” queda más cerca de “positivo”, lo que indica que en esta comarca la aparición de la VO esta muy relacionada al uso de plántones procedentes de vivero. Además el “regadío” coincide con “usos previos de riego”, lo que revela que todo el olivar que actualmente está bajo régimen de regadío se ha ubicado sobre superficies que se habían cultivado tradicionalmente el regadío, probablemente infectadas por el hongo. De hecho, el segundo cultivo mayoritario en regadío en esta comarca después del olivar son los hortícolas al aire libre (Figura 66).

3.3.2 Comarca de la Vega

Los resultados obtenidos para la comarca de la Vega son similares para los obtenidos para la comarca Norte, resultando una asociación de la VO en esta comarca a los viveros y, en menor grado, a la utilización de tierras infectadas por el hongo. En la comarca de la Vega la categoría positivo para la VO queda situada en el cuadrante superior izquierdo, cerca de la categoría “vivero” (Figura 67). En cambio, las variables “uso del suelo en regadío” que coincide nuevamente con el olivar en “regadío”, quedan situadas en la misma dimensión izquierda, pero en el cuadrante inferior, y por lo tanto más alejadas del positivo. De hecho, esta zona de la Vega ha sido tradicionalmente de regadío.

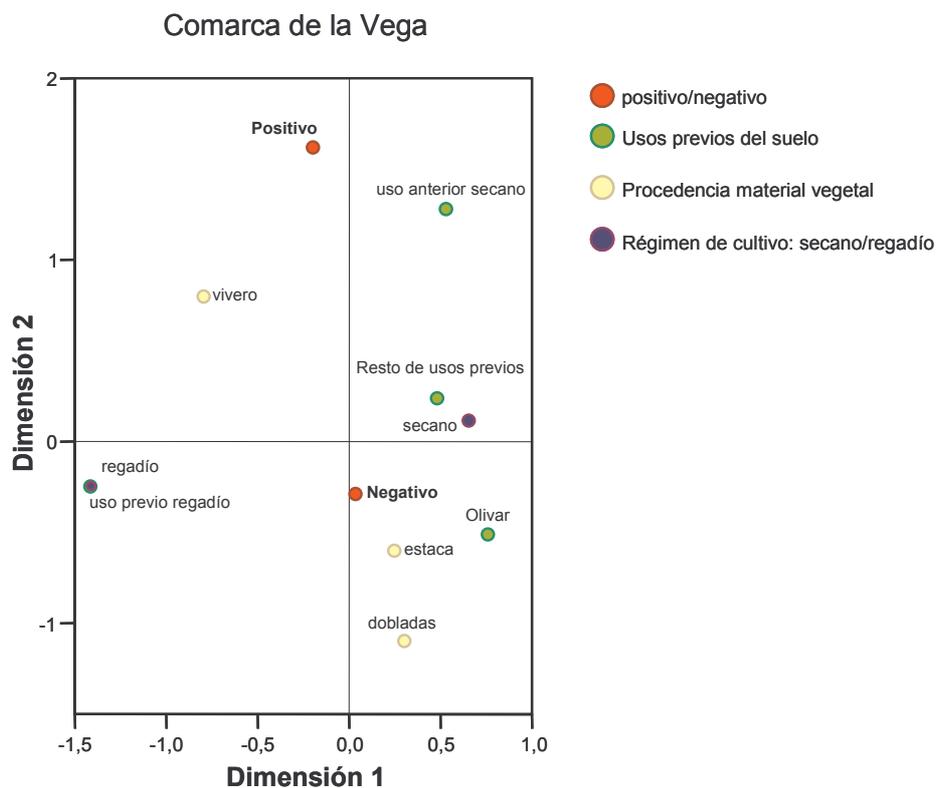


Figura 67. Mapa de escalamiento óptimo para la comarca oleícola granadina de la Vega

3.3.3 Comarca de Alhama-Temple

Los resultados son similares a los obtenidos en las anteriores comarcas, con la diferencia de que en este caso “resto de usos previos” es la variable más cercana a la categoría “positivo” (Figura 68). En esta comarca, los mayores valores de prevalencia se han situado en parcelas antes ubicadas sobre tierras forestales. Además, el uso de material vegetal procedente viveros ha estado asociado con la frecuencia de aparición de la VO. Por todo ello, las categorías “resto de usos previos” y “vivero” se sitúan dentro del cuadrante superior derecho junto a “positivo”, poniendo de manifiesto la estrecha relación entre la VO y los viveros que suministran el material vegetal en la comarca de Alhama (Figura 68). En este caso la categoría “uso anterior en regadío” no resulta tan determinante y aunque queda en la misma dimensión del positivo, esta muy cerca del negativo.

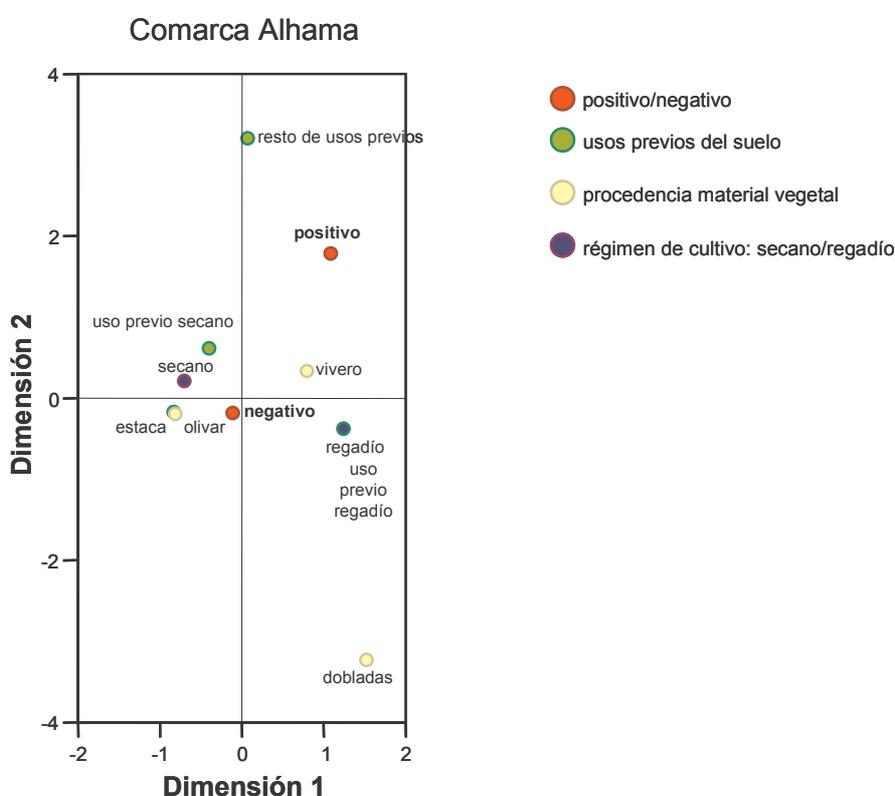


Figura 68. Mapa de escalamiento óptimo para la comarca oleícola granadina de Alhama

3.3.4 Comarca del Sur

En esta comarca se sigue observando la misma tendencia que para las otras, especialmente en la asociación de las variables, estaca y olivar al “negativo” y en la coincidencia del olivar en “regadío” con “usos anteriores de riego” (Figura 69). En lo

referente al positivo, las categorías asociadas a la VO son el “uso anterior del suelo en seco” y “vivero”, y algo más lejos aparece el “uso anterior en regadío” (Figura 69).

Todo esto resume los resultados tan diversos obtenidos hasta ahora para esta zona. En la comarca del Sur, la VO se ha registrado en suelos dedicados al seco donde se ha cultivado almendro y viñedo principalmente, y además, la frecuencia de aparición de la VO fue muy superior en las parcelas que utilizan plantones procedentes de vivero. Esto ilustra la nube de puntos obtenidas para el cuadrante superior derecho indicando la importancia de los viveros en esta zona. Por otro lado, en esta zona hay otro paisaje de olivar constituido por árboles maduros formando los bordes de los bancales a modo de seco, mientras que el centro de las terrazas se dedica al regadío con otros cultivos que se han sustituido por olivos jóvenes. Esta correlación de la VO con los cultivos en regadío se dibuja mediante la aparición de la categoría “usos previos de regadío” en el cuadrante inferior derecho.

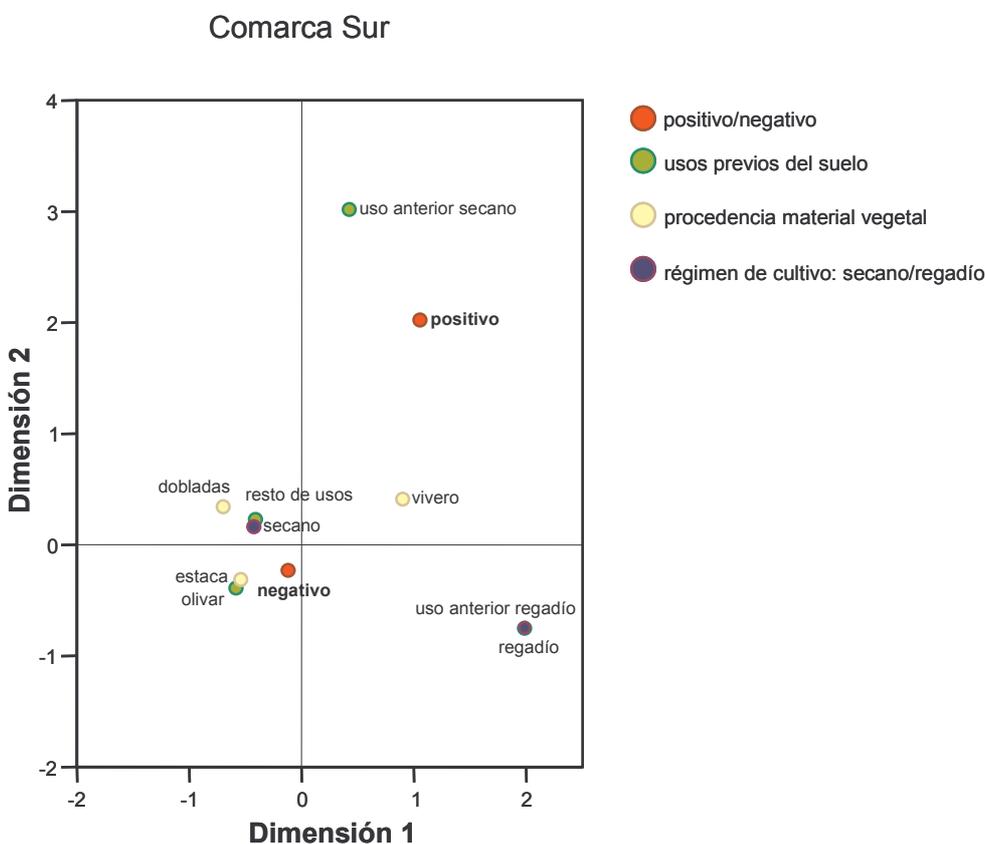


Figura 69. Mapa de escalamiento óptimo para la comarca oleícola granadina del Sur

3.3.5 Comarca de Levante

En esta comarca, la dimensión del positivo se correlaciona más con el uso de tierras infectadas que con el vivero, concretamente, la variable más asociada es el “uso anterior en secoano” (Figura 70). En esta zona se cultivan girasol y forrajeras tanto en secoano como en regadío, de ahí los resultados obtenidos en el apartado 3.2.3.2 para la prevalencia de la VO en esta comarca en suelos catalogados como áreas agrícola heterogéneas. A este efecto se suma, el hecho de que la VO fue más prevalente en las parcelas con plantones procedentes de viveros.

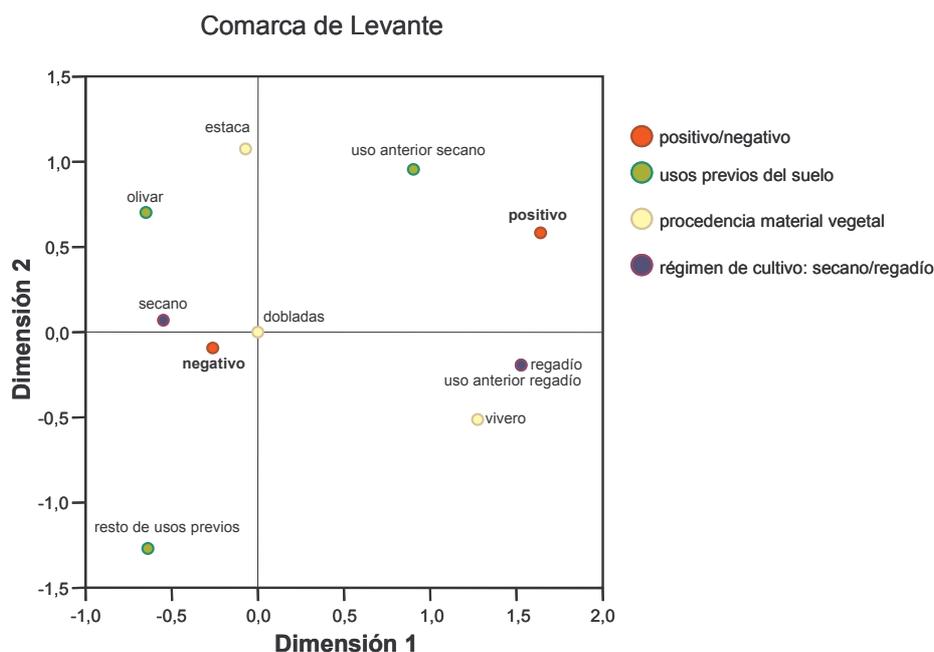


Figura 70. Mapa de escalamiento óptimo para la comarca del Levante

3.4 LA VERTICILOSIS DEL OLIVO Y LAS CONDICIONES AMBIENTALES

Las condiciones ambientales juegan un papel determinante en la germinación de los MC de *V. dahliae*. Igualmente, la severidad de la enfermedad esta relacionada con parámetros como la evapotranspiración del suelo o la humedad del mismo. El conocimiento sobre la Verticilosis del olivo y su relación con las variables ambientales puede ser determinante a la hora de entender patrones de distribución, incidencia o severidad de la misma.

Para el análisis estadístico, en todas las variables ambientales estudiadas, se han omitido las categorías que tuvieran menos de cinco casos. No se registraron

diferencias estadísticamente significativas entre la VO y las variables: temperatura, precipitación, altitud y pendiente (test t-Student $p > 0,005$). No obstante, cabe destacar la variable pendiente, cuyos valores de prevalencia en las parcelas con pendientes muy altas del 30-45%, y especialmente, en parcelas con pendientes medias muy bajas, casi llanas del 0-2%, superaron ampliamente la media provincial del 14% (Figuras 72). En relación con las otras variables, la VO fue más prevalente en parcelas de 400 mm de pluviometría media anual, y 13°C de media y que están situadas entre los 200-400 msnm de altitud (Figura 71).

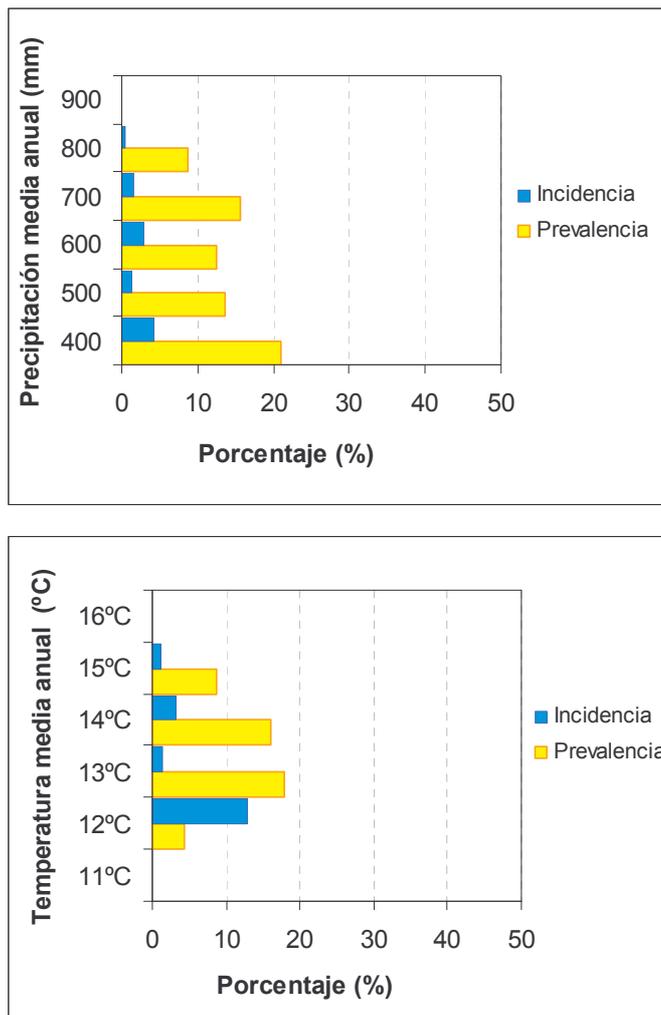


Figura 71. Distribución de la prevalencia e incidencia de la VO según la precipitación media anual y la temperatura media anual de las parcelas oleícolas granadinas donde se ha detectado la presencia de *V. dahliae*.

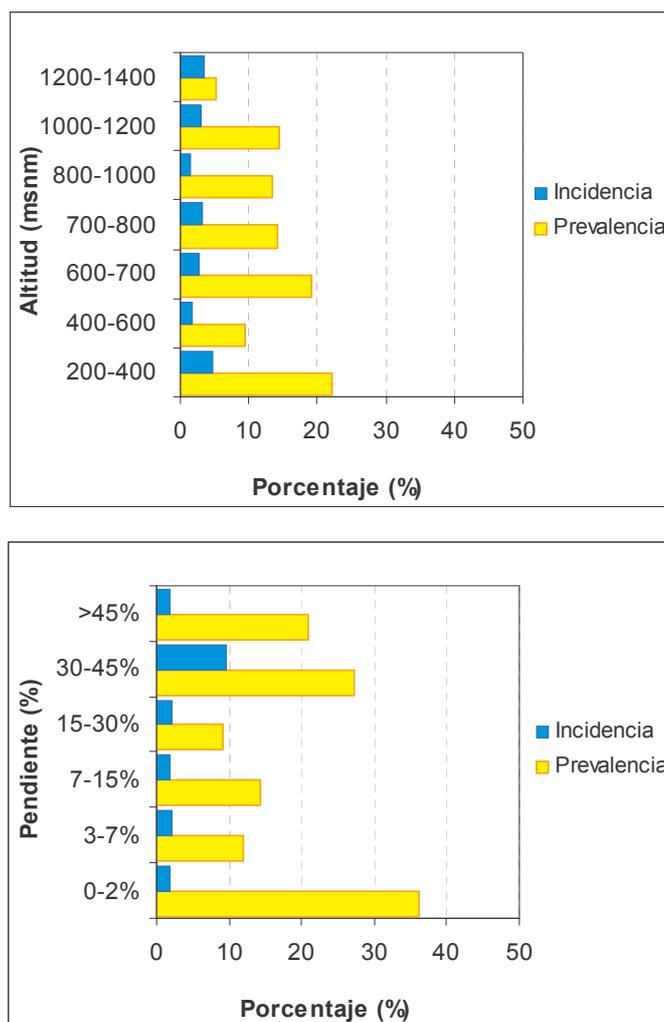


Figura 72. Distribución de la prevalencia e incidencia de la VO según la altitud y la pendiente media de la parcela de las parcelas oleícolas granadinas donde se ha detectado la presencia de *V. dahliae*.

En cuanto a la Incidencia en relación con las diferentes variables ambientales, ésta fue correlativa a la prevalencia de la enfermedad afectando a más número de olivos allí donde la VO resulta más frecuente. Puntualmente, la incidencia aumentó en algunos casos, como por ejemplo en plantaciones sometidas a temperaturas medias de 12° C o situadas en altas pendientes del 30-45%.

Sí se registraron diferencias significativas en el estudio de asociación entre la VO y el tipo de suelo ($X^2= 30,883$ p valor asociado $<0,05$), de forma que la enfermedad prevaleció en parcelas situadas sobre las unidades, 2, 41, y 15, con valores de P del 64%, 40% y 33% respectivamente (Figura 73). Las cifras más altas registradas para la incidencia (unidad 58) no coincidieron con los de la prevalencia.

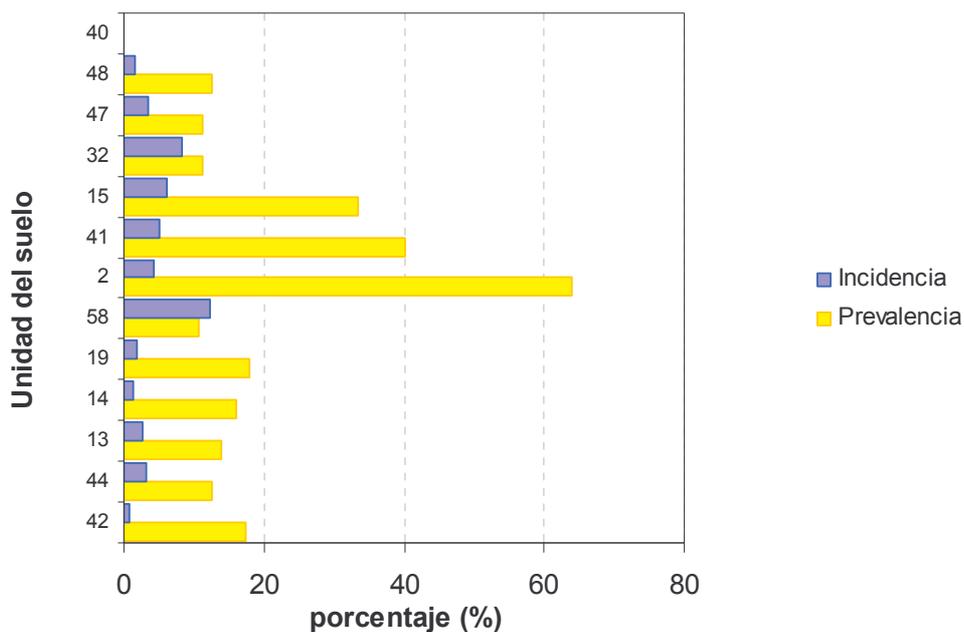


Figura 73. Distribución de la Prevalencia e Incidencia de la Verticilosis del olivo en función del tipo de suelo

Dado que el regadío afecta a las condiciones de temperatura y humedad del suelo, y a que el establecimiento del regadío en las plantaciones de olivar esta íntimamente relacionado con una mayor prevalencia de la VO, se ha analizado el efecto de dichas variables, esto es precipitación y temperatura, según el régimen de cultivo al que la parcela esté sometida.

En cuanto a la precipitación, parece ser que el establecimiento del riego amplía el rango de distribución en el que aparece la VO (Figura 73). Es decir, mientras que en las parcelas en secano la VO prevalece en zonas con 700 y 600 mm de pluviometría media (Figuras 74 y 75), en las parcelas con riego los valores de prevalencia son muy parecidos entre los diferentes rangos, y la VO surge desde los 400 mm hasta los 800 mm de media (Figuras 74 y 76).

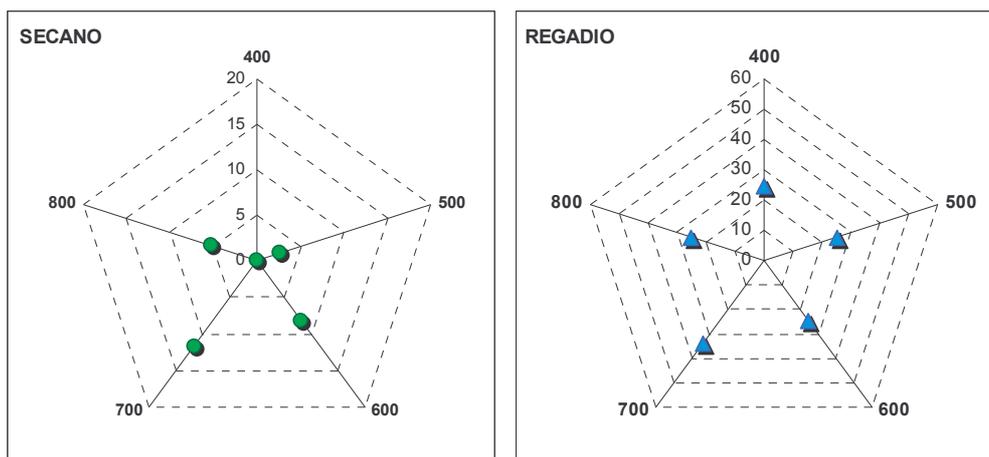


Figura 74. Distribución de la prevalencia de la VO en parcelas granadinas según régimen de cultivo: seco y regadío y en función de la precipitación media anual.

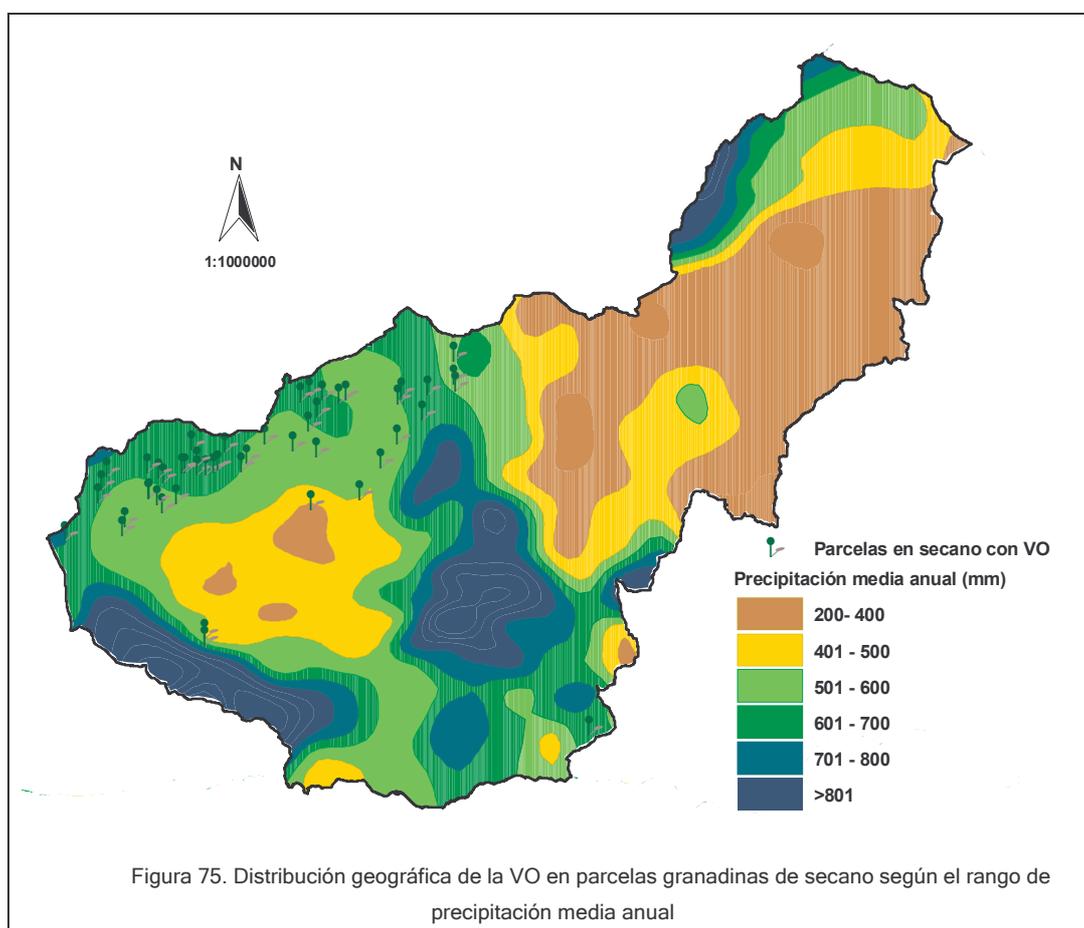
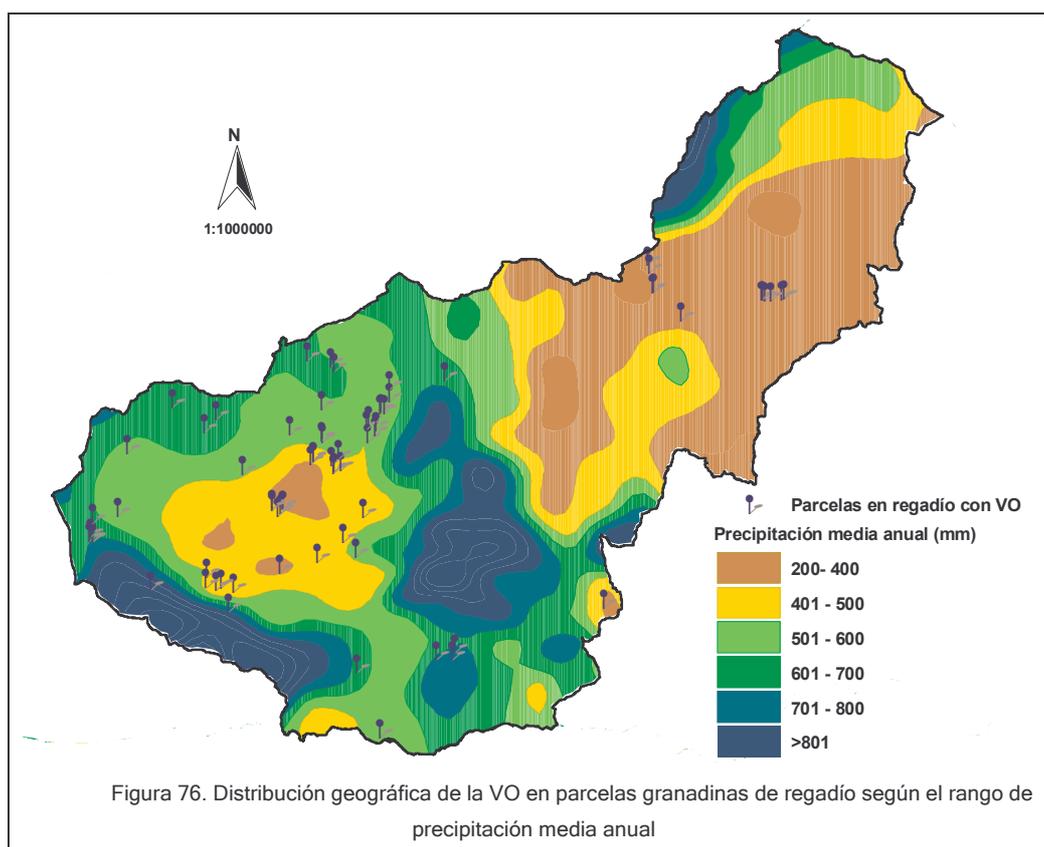
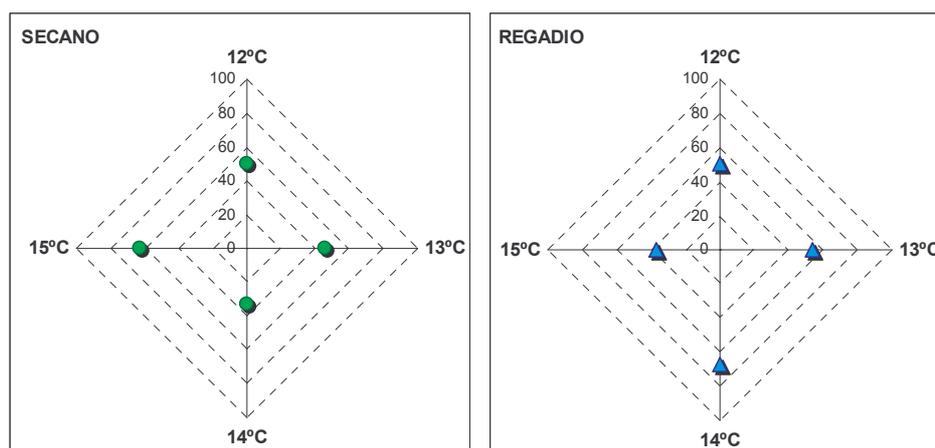
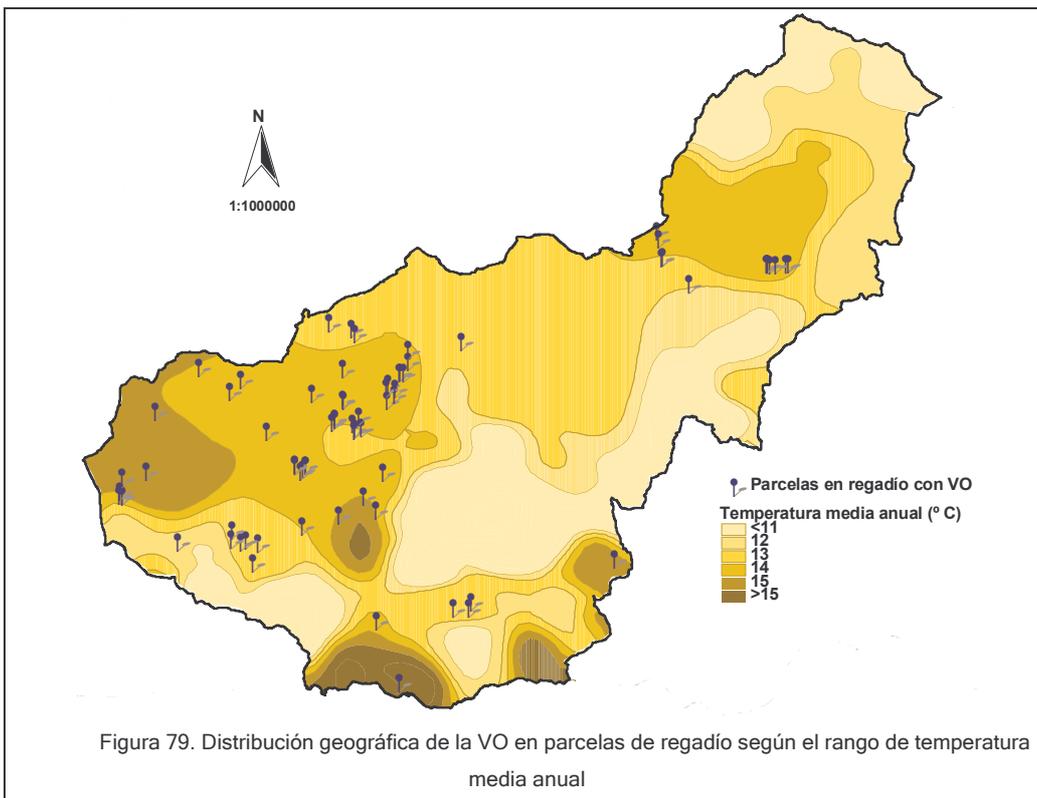
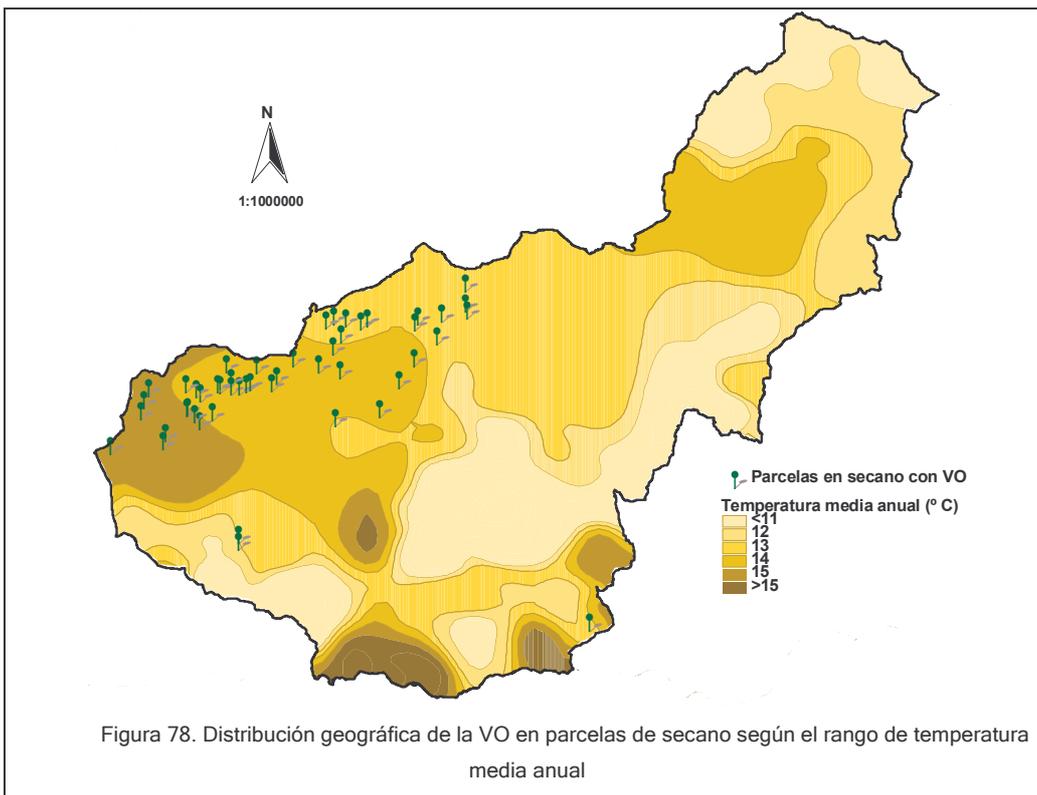


Figura 75. Distribución geográfica de la VO en parcelas granadinas de seco según el rango de precipitación media anual



Tanto en parcelas de secano como en las de regadío, la VO se distribuye de forma homogénea entre los diferentes rangos de temperatura (Figura 77), aunque en las plantaciones de secano, la enfermedad prevalece en zonas con un grado más de temperatura media (temperatura media = 15° C). Cuando hay riego, la Verticilosis se desplaza más hacia las parcelas donde la temperatura media alcanza los 14° C de media (Figuras 77, 78,79).

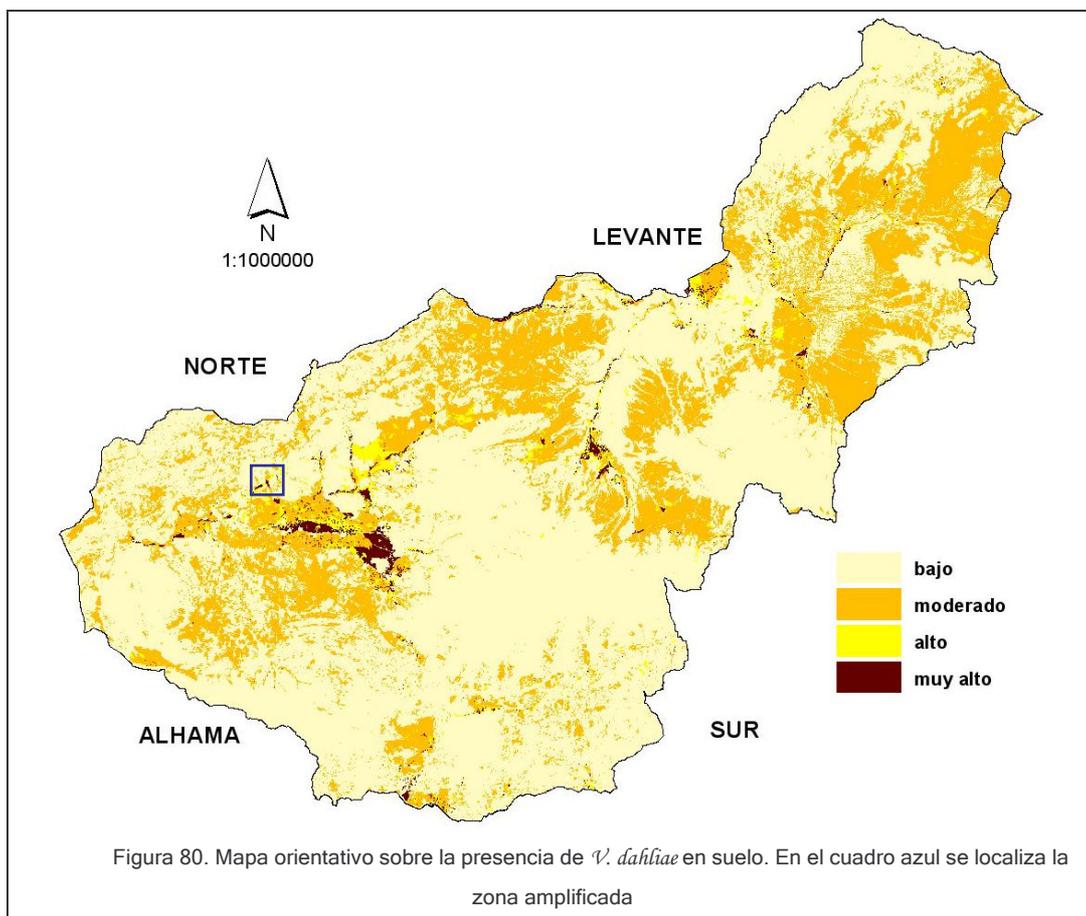




3.5 MAPA DE RIESGO

En este mapa orientativo se estima la ocupación potencial del patógeno en el suelo mediante la superposición de las variables que mejor pueden explicar la distribución del mismo (Figura 80). Dichas variables son, el tipo de suelo, los usos del suelo y cubiertas vegetales así como los cultivos y aprovechamientos del suelo.

Se dibujan puntos críticos que provocan zonas de riesgo, que quedan especialmente circunscritos a los valles y vegas fluviales, principalmente la vega del Río Genil situada en la comarca de la Vega (Figura 80). El nivel de detalle y precisión aumenta considerablemente a escalas inferiores por lo que cualquier punto geográfico correspondiente a la provincia de Granada podrá ser consultado. Debido a la imposibilidad de presentar la totalidad de la provincia a escalas más pequeñas, se muestra un detalle a escala 1: 50000 para el caso de suelos situados en las cercanías del municipio de Illora (Figura 81). En el mapa de riesgos dicha zona queda localizada mediante un cuadrado.

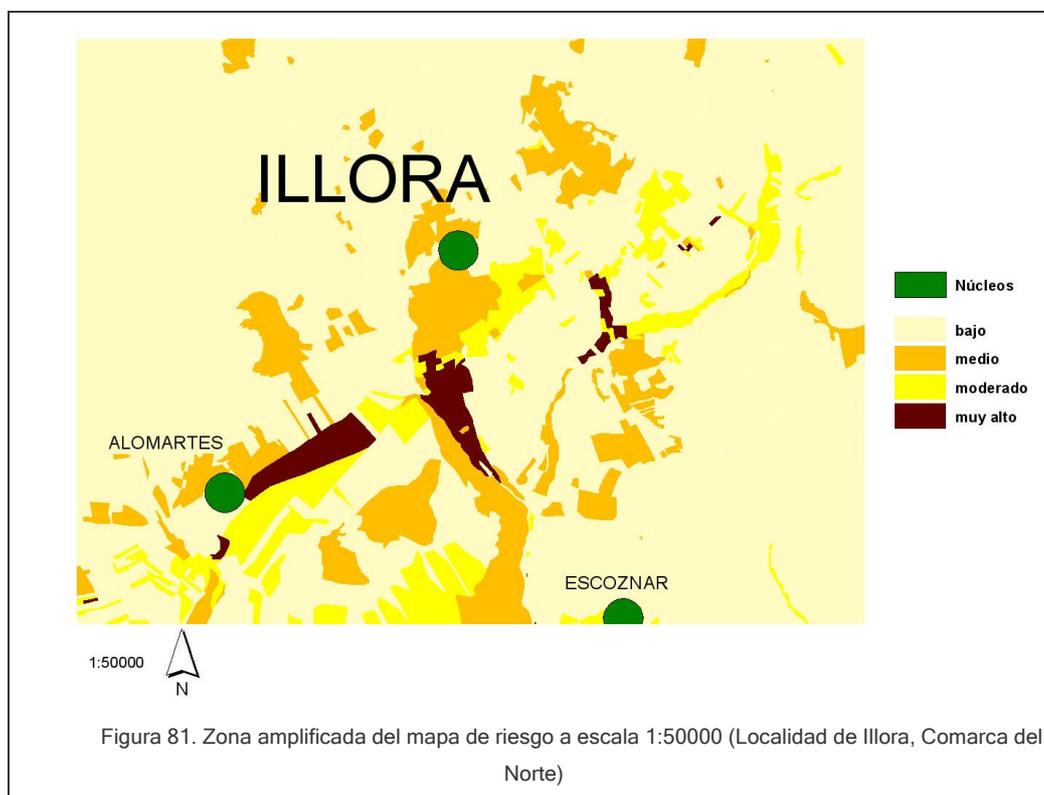


Las zonas de bajo riesgo se corresponden principalmente con zonas de olivar tradicional en secano, frutales en secano, mosaicos de cultivos con vegetación natural así como superficies naturales, como matorrales o pastizales o forestales.

Las zonas de riesgo moderado la constituyen aquellas áreas que principalmente se corresponden con cultivos leñosos con mosaicos de cultivos en secano y con cultivos herbáceos en secano. Algo menos de olivar en regadío y mosaicos de cultivos en secano y regadío. Son abundantes los suelos pertenecientes a la Unidad 15.

Las zonas de riesgo alto coinciden normalmente con suelos dedicados a los cultivos herbáceos en regadío, mosaicos de cultivos en secano y regadío y olivares en regadío. Hay abundancia de suelos pertenecientes a la Unidad 41.

Las zonas de riesgo muy alto se sitúan en suelos donde previamente se han cultivado de forma tradicional los cultivos herbáceos en regadío, con abundancia de hortalizas, además de cultivos leñosos en regadío con mosaicos de cultivos en regadío. Los suelos más abundantes en este rango son los pertenecientes a la Unidad 2.



Discusión

4.1 LA VERTICILOSIS DEL OLIVO EN LA PROVINCIA DE GRANADA

Con la denominación de “Seca del olivo” se conoce a aquellos casos de sintomatología consistentes en una marchitez generalizada o sectorial de árboles jóvenes, que afecta a la copa y que puede originar la muerte del olivo, independientemente de la etiología concreta que la produzca en cada caso. Prospecciones para caracterizar la etiología de este problema dirigidas por la sección de Sanidad Vegetal de Córdoba a lo largo de siete años (1989-95), identificaron tres factores fundamentales: la Verticilosis del olivo, las podredumbres radicales y las heladas. Existen otros factores responsables, aunque de menor importancia como el ataque de *E. pingüis* y el mosquito de la corteza, alteraciones nutricionales, problemas de suelo y prácticas agronómicas inadecuadas. En el estudio mencionado la VO fue la responsable de la sintomatología en un 18,6% de los casos y en nuevas prospecciones realizadas entre 1994-1996 se concluyó que la VO era la principal causa de mortandad entre olivos de 4-10 años (Sánchez Hernández et al., 1998; 1998a).

Estudios similares realizados en Jaén durante el año 2001 por la Junta de Andalucía y la “Asociación de la Denominación de origen de Sierra Mágina”, detectaron *V. dahliae* en un 65% de los casos. Las frecuencias producidas por otros factores se debieron principalmente a podredumbres radiculares, identificadas en un 4,5% de las parcelas, *E. pingüis* con un 1,5%, heladas con 0,8%, y en un 6,2% de las plantaciones la seca se debió a otras causas, y en un 22% la etiología era desconocida.

Nuestros resultados sobre el estudio epidemiológico de la VO causada por el hongo de carácter vascular *V. dahliae* en la provincia de Granada, revelan también datos sobre otros agentes causales de la sintomatología de “Seca del olivo”. La VO se detectó en un 14 % de las plantaciones, apareciendo además síntomas inespecíficos parecidos a la Verticilosis que fueron debidos principalmente a insectos como *E. pingüis* y cochinilla, a enfermedades causadas por el Repilo, tuberculosis y desajustes nutricionales, además de hongos de la raíz, entre otros.

Nuestros resultados son similares en cuanto sitúan al patógeno *V. dahliae* entre los principales responsables del síndrome de seca del olivo, si bien las proporciones relativas de los demás agentes causales, lógicamente, varían entre las diferentes zonas de estudio. No obstante, un resultado interesante fue comprobar que en un 11% de los casos en los que se diagnosticó VO, esta enfermedad estuvo asociada a ataques por *E. pingüis*. Los ataques de este pirálido se citaron por primera vez en Andalucía por Mendizábal (1994) y en los últimos años la plaga se ha extendido por todo el olivar andaluz, especialmente en los árboles jóvenes. *E. pingüis* prefiere árboles

debilitados donde hay retención de savia y permite el desarrollo completo de sus larvas. Por lo tanto, el ataque de este insecto está inducido por cualquier factor que provoque una intensa depresión vegetativa, como es el caso de la Verticilosis, por lo que parece lógico pensar en un efecto sinérgico entre ambas especies.

En España, las primeras estimaciones dirigidas sobre la VO las realizaron Blanco López y colaboradores (1984) durante los años 1980-1983 en las principales provincias olivareras andaluzas. Concluyeron que la enfermedad estaba bien establecida en las provincias de Córdoba y Jaén, donde se detectó con una frecuencia del 38,5% en plantaciones de olivos jóvenes de menos de 15 años, con una incidencia media variable entre el 10 y 90%. La enfermedad era poco prevalente en la provincia de Granada, donde se registró en tres de los 10 olivares prospectados, con una incidencia media (Im) del 9,5%. Según nuestros resultados para la provincia de Granada, la Verticilosis del olivo se ha detectado en 123 de las 873 parcelas prospectadas al azar ($P = 14,1\%$), con una Im del 9,4% variando desde el 0,1% hasta el 97%, lo que supone unos 103.073 olivos enfermos o muertos por *V. dahliae*. Comparando resultados de Blanco y colaboradores con los de este estudio, los valores de prevalencia registrados en la provincia de Granada han disminuido del 30% hasta un 14% en un periodo de 20 años, aunque los valores de incidencia media se han mantenido. No obstante, esta disminución puede deberse a que el número de campos prospectados por Blanco y colaboradores no pudiera ser representativo y además estaba dirigido a zonas afectadas con sintomatología de Verticilosis.

En el año 1995, un estudio sobre las principales plagas y enfermedades que afectan al olivar en el área enmarcada en la cuenca del río Guadajoz, zona situada entre las provincias de Córdoba y Jaén, colindantes con la zona norte-oeste de la provincia de Granada, señalan que la VO no se incluye entre las enfermedades que más afectan al olivo, apareciendo como un problema localizado y bajo control (Cuesta y Delgado, 1995). Estudios más recientes y aleatorios se han realizado en las provincias de Jaén y Cádiz (Ávila et al., 2005; León Gallego, 2000). En la provincia de Jaén se registró una frecuencia del 30% con un total de 166 campos prospectados, de los cuales 100 fueron elegidos al azar, mientras que en Cádiz, en un 43,3% de los campos visitados se identificó la VO, con una Im del 1,05%, lo que implicaría un total de 13.000 árboles enfermos o muertos. Prospecciones recientes sobre la VO en otros países con importancia en el cultivo del olivo, como es la región sur-oriental de Italia, indican que la VO tiene una prevalencia del 18% (Nigro et al., 2005).

La VO es menos prevalente en Granada que en el resto de las zonas colindantes prospectadas en los últimos años. Sin embargo, este hecho puede ser consecuencia del muestreo dirigido en estas plantaciones afectadas y con claro

síndrome de VO, y al menor número de parcelas prospectadas, frente al muestreo aleatorio y representativo realizado en nuestro estudio. Además, otros estudios quedan circunscritos a una determinada área agrícola, mientras el estudio en las cinco comarcas olivareras granadinas representa sistemas agrícolas muy diferentes y muestran una visión mucho más global del problema. De hecho, la prevalencia e incidencia de la enfermedad difiere dependiendo de la comarca oleícola. No obstante, es esperable que los ataques de VO sean superiores en las comarcas limítrofes de Jaén, ya que el incremento del olivar, especialmente de la superficie regada es mayor en esta provincia y a que la enfermedad lleva más tiempo establecida en esta zona.

4.1.1 Patotipos

Un 76% de las parcelas infectadas y analizadas en este trabajo lo estuvieron por el patotipo ND y un 24% por el D. Estos datos coinciden con la información disponible sobre la distribución geográfica de la VO que indica que los ataques de la enfermedad en España son causados mayoritariamente por aislados del patotipo ND (Jiménez Díaz et al., 1998), mientras que corroboran la extensión y el establecimiento de los aislados virulentos en la provincia de Granada, con una prevalencia del 3,4%. Estos aislados han resultado ser más frecuentes en la parte oeste de la provincia, concretamente en las comarcas de Alhama, Vega y Norte, por este orden, aunque resulta alarmante la presencia en número absoluto del patotipo D en esta última, donde además, el aislado virulento es más incidente. Los estudios de prospección realizados en 2001 en Sierra Mágina, colindante con la comarca del Norte granadina, no detectaron ningún caso del patotipo D. Aunque este aislado virulento parece estar bien establecido en las otras provincias andaluzas, no hay datos sobre su localización geográfica provincial o de su prevalencia o incidencia real en campo con los que se puedan comparar.

El patotipo ND no sólo ha resultado estar más extendido por la provincia, sino que también posee mayores tasas de incidencia, afectando casi el doble de árboles por parcela que los aislados D. La incidencia va a estar determinada por la cantidad de inóculo de *V. dahliae*, el patotipo y las proporciones de los mismos que existan en el suelo, así como otros factores ambientales y agronómicos. En nuestro estudio se ha determinado que entre dichos factores se encuentran el regadío y la densidad de plantación que serán discutidos más adelante. La mayor incidencia del patotipo ND ha sido demostrada por otros autores. Por ejemplo, Navas Cortés y Trapero Casas (2002) detectaron los primeros síntomas de Verticilosis en tres de los 1.800 olivos de una plantación de la variedad Arbequina, donde la cantidad del patotipo defoliante del hongo había de ser necesariamente muy reducida a los dos años y medio desde la

plantación. Comparativamente, en una parcela de olivar de la variedad Picual en Israel, altamente infectada por el patotipo no defoliante, como consecuencia del cultivo durante treinta años de plantas hortícolas susceptibles a *V. dahliae*, la Verticilosis afectó a más del 20% de los árboles en un año y medio después de la plantación (Levin et al., 2003).

En nuestros resultados, aunque los aislados ND causaron un mayor número de árboles enfermos, los aislados del D indujeron síntomas más severos en los olivos y murieron hasta 8 y 9 veces más árboles. Además, nuestros resultados de campo ratifican los estudios de laboratorio con respecto a que la severidad de los ataques de la VO están directamente relacionados con la naturaleza de los aislados de *V. dahliae*, de acuerdo con su capacidad de causar defoliación y eventual muerte de la planta (los patotipos defoliante D), o sólo clorosis foliares y necrosis de brotes moderadamente severos (no defoliante ND) (Rodríguez Jurado, 1993) y que las infecciones por el aislado D en el campo causan epidemias más severas que las producidas por el aislado ND (López Escudero y Blanco López, 2001; Martos Moreno y Blanco López, 2001).

En resumen, se puede decir que la prevalencia de la enfermedad en la provincia de Granada es menor con respecto a la registrada en otras zonas oleícolas andaluzas, aunque su incidencia sí es similar. Esto es debido, probablemente, a que se trata del primer estudio representativo de una gran zona agrícola. El aislado ND es más frecuente que el aislado D, y este último presenta una prevalencia del 3,4% quedando circunscrito a la zona norte y oeste de la provincia. El aislado D produce ataques más severos con una sintomatología más aguda, mientras que el aislado ND ha infectado mayor número de olivos, probablemente debido a que su prevalencia de forma natural en los suelos sea mayor que la del aislado D.

4.1.2 Comarcas oleícolas granadinas

Nuestros resultados indican que la Verticilosis del olivo está extendida por toda el área de distribución del olivo en la provincia de Granada, detectándose en las cinco comarcas olivareras. Sin embargo, la enfermedad no fue igual de prevalente ni afectó a todas las zonas con la misma intensidad. Para la discusión de este apartado es importante tener en cuenta que, entre los factores que influyen sobre la tasa de prevalencia y que se describieron en el apartado 2.3.4.1 de la metodología se encuentran: la duración de la enfermedad, la vida media de los huéspedes, la tasa de letalidad y el número de casos nuevos.

La comarca del Norte, seguida de cerca la comarca de la Vega, fueron las zonas donde la VO fue más prevalente, aunque la intensidad o incidencia fue mucho mayor en la comarca Norte, que en la comarca de la Vega.

El aumento de la frecuencia en estas dos comarcas podría explicarse por el hecho de que olivo es un árbol longevo y a que la VO podemos considerarla como una enfermedad de larga duración ya que el suelo permanece infectado debido a la gran supervivencia de los MC. A esto se le une el hecho de que estas dos zonas son las de mayor tradición de olivar en la provincia, por lo que es muy probable que sean las comarcas donde la VO lleva más tiempo establecida. Para que la tasa de prevalencia se mantenga alta, puede ocurrir también que haya pocos casos de letalidad, por lo que los aislados de estos territorios no deben de provocar la muerte de los olivos. También pueden estar produciéndose un aumento de nuevas infecciones, lo que contribuiría a las mayores tasas de prevalencia. Este último punto cobra especial relevancia en la comarca del Norte, donde sucesivas infecciones de olivar se siguen produciendo. Esta observación se basa en el hecho de esta comarca tiene cifras de cerca del 50% de prevalencia en plantaciones de 0-7 años. Este mayor número de nuevas plantaciones afectadas puede provocar que la VO sea más prevalente en la comarca del Norte con respecto a la comarca de la Vega.

La incidencia es una medida de la velocidad promedio a la que se propaga una enfermedad. Según nuestros análisis, la comarca de la Vega muestra niveles más bajos de incidencia, por lo que debe estar produciéndose un fenómeno de recuperación natural de los síntomas aunque los árboles permanezcan infectados, lo cual provoca una alta prevalencia pero una baja incidencia. También podemos apuntar que Hojiblanca, que es una variedad muy representativa en esta comarca, posee cierta resistencia a la VO en condiciones de campo, aunque nuestros resultados con respecto a las variedades de olivo y su susceptibilidad frente a la VO no son del todo concluyentes debido a la concomitancia que muestra esta variable con las demás. Además, la mayor incidencia del patotipo D se registró en la comarca del Norte, donde deben existir ciertas condiciones favorables al patotipo D que determinen esta situación. Pudiera estar relacionado con el hecho de que la incidencia de la enfermedad fue muy superior en plantaciones de secano y con árboles de 13-40 años de edad, resultando este rango de edad superior en la comarca del Norte con respecto a las demás. Por último, añadir que esta zona es la que tiene mayor superficie de olivo de la variedad Picudo en Granada, y según nuestros resultados, y citando lo anteriormente referido para la variedad Hojiblanca, se ha observado cierta susceptibilidad de este cultivar a la VO, y fundamentalmente al aislado D en condiciones de campo.

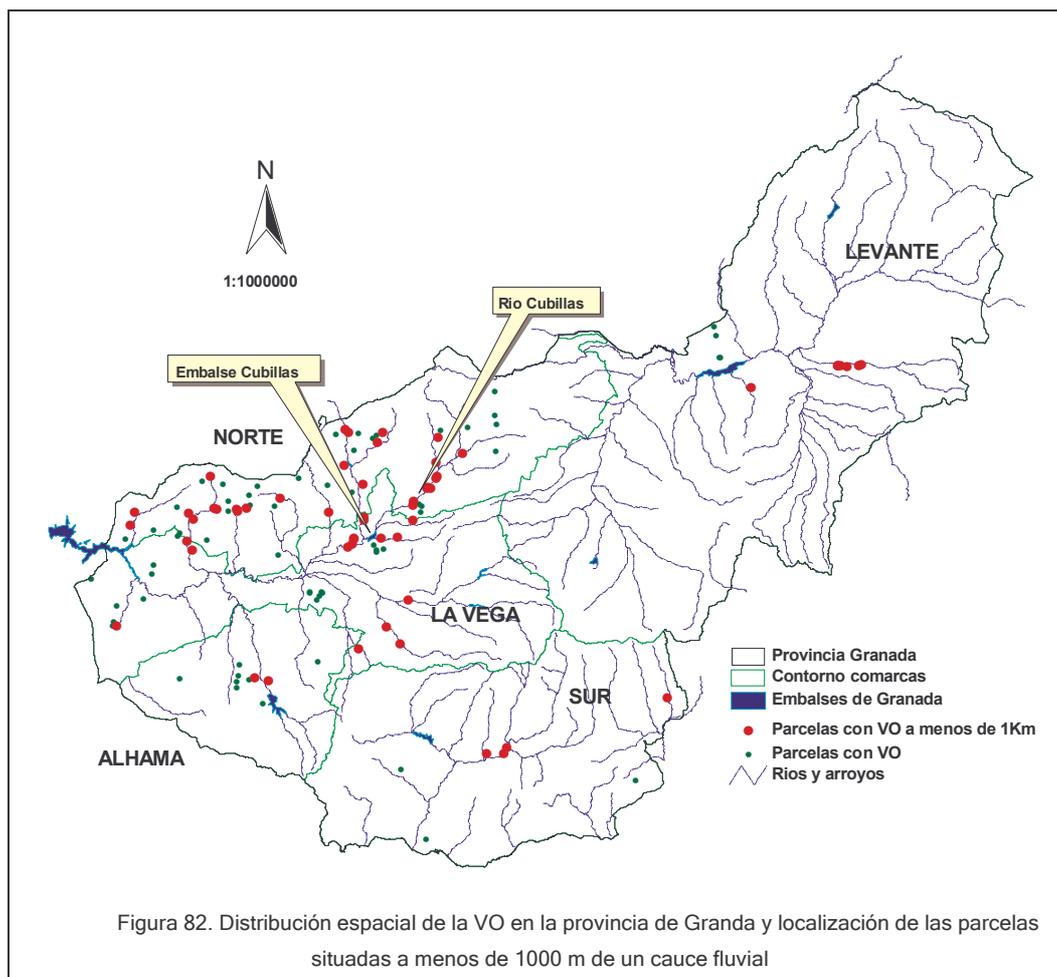
En las comarcas de Levante y Sur, especialmente en el Sur, la enfermedad fue menos prevalente que en las comarcas del Norte y de la Vega, aunque fueron las zonas donde se contabilizó una mayor incidencia, fundamentalmente en el caso del Levante. Una enfermedad con una tasa de incidencia alta pero de corta duración mantendrá una prevalencia baja, lo que indica que en estas comarcas, la tasa de letalidad debe ser mayor, además de no producirse una recuperación de los síntomas. Teniendo en cuenta que no se ha detectado ningún caso de aislado D en la comarca del Sur y tan solo se ha registrado una parcela con dicho aislado en la del Levante, las causas que provocan esta alta incidencia hay que atribuir las a otros aspectos. Sin duda, la gran cantidad de superficie de olivar en regadío y las altas densidades de plantación practicadas en estas comarcas originan unas condiciones muy favorables a la VO y también una buena tasa de infección. Este hecho es patente en el caso de la comarca del Levante donde el regadío y las altas densidades no solo se practican en las plantaciones jóvenes, sino que se extiende a todo el olivar. Esto causa que la enfermedad sea prevalente en cualquier rango de edad y a cualquier densidad realizada. Además, en Levante casi la totalidad del olivar es de la variedad Picual, variedad, que según nuestros resultados y los de otros autores (ver discusión de las variedades), es sensible a la VO en campo. En el caso del Sur, la mayor prevalencia queda restringida a las plantaciones dobladas. Estas plantaciones surgen como consecuencia del relieve de la zona y de la renovación del olivar estructurado en bancales, donde los olivos de la variedad Lechín de Granada, injertados frecuentemente en acebuches, ocupan el borde del bancal y los jóvenes picuales el centro de los mismos. Dada la resistencia del acebuche a la VO, puede deducirse que este hecho pueda derivar en la menor prevalencia del Sur con respecto al Levante.

Finalmente, la comarca de Alhama fue la zona donde la enfermedad fue menos prevalente y menos incidente a pesar de la presencia del aislado D con una $P=2,8\%$, por lo que este aislado no provoca epidemias. En la comarca de Alhama, se mezclan dos tipos de olivares, el olivar extensivo y el intensivo. Esto es el resultado del espectacular crecimiento que ha tenido el olivar en esta zona desde los años 80, que ha duplicado su superficie, especialmente la de regadío, siendo la segunda comarca donde el cultivo del olivo se ha extendido más después de la comarca del Levante. De hecho, la VO queda restringida a las plantaciones de 8-12 años en regadío y con altas densidades. Estas características son condicionantes para esperar que, en esta zona de Alhama, tanto la prevalencia como la incidencia de la enfermedad fueran superiores a los valores anotados. Una baja prevalencia es indicativa de un escaso riesgo. La comarca de Alhama es de gran tradición cerealista con cultivos herbáceos, de secano, como cebada, trigo y avena así como de cultivos leñosos como el almendro que han

ido retrocediendo a favor del olivar. Este uso prolongado de la tierra con cultivos de cereales o huéspedes no susceptibles a la VO puede significar una protección frente a posteriores infecciones de la enfermedad y presentarse como suelos que tienen un bajo riesgo de contener altas densidades de inóculo. De hecho, las gramíneas son resistentes a la VO (Pegg y Brady, 2002) y a la infección de los dos aislados (Cabeza Fernández y Bejarano Alcázar, 2005) e incluso los residuos secos de plantas como avena, cebada, trigo y paja se utilizan como enmiendas celulósicas en suelos infectados por el patógeno (Lazarovits et al., 2000). Según esta observación, es esperable que la principal vía de entrada de la enfermedad se deba a la utilización de plantones infectados más que al uso de suelos infectados por el patógeno. Nuestros resultados apoyan esta idea ya que, para esta comarca, la asociación de la VO a los viveros fue de un 18% en el caso del ND y de un 100% en el caso del aislado D. Por otro lado, Alhama es la comarca más rica en variedades autóctonas, siendo una de las características de la zona el cultivo de diferentes variedades dentro de una misma parcela. Es una práctica antigua llevada a cabo por los agricultores en parte por la mejora de la polinización del olivo y en parte con el fin de amortiguar la vecería del olivar. Este hecho ha podido contribuir negativamente sobre la velocidad de propagación de la enfermedad y en concreto, del aislado D, ya que hay menos homogeneidad en los genotipos.

4.2 DISTRIBUCION ESPACIAL DE LA VERTICILOSIS DEL OLIVO

En ecología se reconocen tradicionalmente tres patrones generales de distribución de los individuos a lo largo del espacio: agregada, aleatoria, y uniforme. Los hongos fitopatógenos suelen presentar, en general, una distribución contagiosa o agregada en el perfil del suelo rizosférico (Jiménez Díaz et al., 2004). Al observar la distribución de la VO en la provincia de Granada, se manifiesta que el patrón de la enfermedad en este caso también es agregado y además desvela información muy valiosa sobre las posibles vías de entrada de la enfermedad, dependiendo de las zonas. Por ejemplo, se observa una distribución agregada dependiente de los cauces fluviales, localizándose el patógeno en parcelas situadas a menos de 1000 metros del cauce de un río o arroyo que, habitualmente, se corresponden con vegas fértiles e intensamente cultivadas. Si se observa la Figura 82 se puede apreciar claramente este fenómeno. En estas zonas, la VO debe estar más relacionada con el establecimiento de olivares en suelos previamente cultivados de forma prolongada en el tiempo.



Esta relación entre la distribución agregada de la enfermedad siguiendo la dirección de las vegas fluviales, es especialmente evidente en la comarca del Norte, concretamente en la franja de los montes orientales, donde la VO sigue el cauce del Río Cubillas. En este caso, es permisible pensar que el río Cubillas pudiera desempeñar una vía de dispersión a largas distancias. Este río desemboca en el pantano del mismo nombre, que a su vez, es utilizado para regar extensas superficies de olivar. Esto hecho ha quedado en parte demostrado en estudios previos sobre la detección del patógeno en aguas de riego, observando que *V. dahliae* se dispersa principalmente en forma de MC (Rodríguez et al., 2005). En otros casos (Figura 82), el patógeno sigue una distribución agregada pero con un patrón aleatorio, que debe de estar relacionado con la utilización de plantones infectados, cultivos intercalares o dispersión a partir de los focos de entrada. Estos datos concuerdan con los patrones observados de *V. dahliae* de parcelas de algodón en Andalucía, cuya distribución espacial era agregada en el suelo y que el nivel de agregación variaba entre ellas, de

manera que la agregación tenía un patrón aleatorio u multidireccional en unas parcelas, pero agrupado y variable según la dirección del cultivo en otros (Jiménez Díaz et al., 2004).

4.3 ORIGEN DE LA VERTICILOSIS DEL OLIVO Y DE SU AISLADO DEFOLIANTE EN LA PROVINCIA DE GRANADA

Hasta ahora, el origen y distribución de los aislados D en España se puede dibujar a lo largo del tiempo y del espacio. En principio, hay evidencias que hacen pensar que el patotipo D pudo haberse introducido en España, concretamente desde cultivos de algodón procedentes de América. Esta idea se fundamenta en que los aislados D procedentes de California, China y España son molecularmente muy similares. Por otro lado, tampoco existen diferencias entre los patotipos D y ND de algodón y olivo, es decir, los aislados D y ND del olivo en España son muy similares en características morfológicas, fisiológicas y patógenas a los aislados SS-4 y T-9 de algodón en California. Esto sugirió que el inóculo para la infección de ambos cultivos pudiera venir de la misma fuente (Korolev et al., 2001; Pérez Artés et al., 2000). La relación entre la Verticilosis y la plantación de olivos sobre cultivos susceptibles como el algodón es un hecho que fue señalado por Jiménez Díaz y colaboradores, (1984). Además, los dos patotipos de *V. dahliae* expresan en cultivares de olivo el mismo nivel de virulencia diferencial que manifiestan en cultivares de algodón (Rodríguez Jurado, 1983; Schnathorst y Sibbet, 1971). En España, el patotipo D se localizó originariamente en 1983, en las marismas del Guadalquivir (Sevilla), donde el algodón era intensamente cultivado (Blanco López et al., 1987). En prospecciones posteriores, mientras que el patotipo ND se localizaba a lo largo de todo el valle, el D se quedaba restringido a las partes bajas del mismo (Bejarano Alcázar et al., 1996). Desde aquí se ha extendido tanto a cultivos de algodón situados en las zonas centrales del valle del Guadalquivir (Bejarano Alcázar y Pérez Artés, 2002), como a zonas olivareras tan distantes como el sureste español, entre ellos la provincia de Granada (Bejarano Alcázar et al. 2001; Mercado Blanco et al. 2003; Rodríguez et al, 2004). La dispersión a largas distancias puede ocurrir bien por el uso de material vegetal infectado, o bien por el transporte de los restos de plantas infectadas, como por ejemplo de algodón y olivo. Blanco López y Jiménez Díaz (1995) sugieren que el transporte de cosechas de algodón de cultivos en Las Marismas para su procesado en zonas interiores del Valle ha facilitado la dispersión del patotipo D por Andalucía. La dispersión a cortas distancias puede ocurrir por el transporte de hojas o de suelo afectado.

Por lo tanto, la introducción y la extensión del patotipo altamente virulento en el cultivo de olivo parecen ligadas a los cultivos de algodón. Sin embargo, la importancia económica y social de este cultivo en la provincia de Granada es mínima (Figura 83). La localización geográfica del patotipo D en la zona oeste de la provincia podría sugerir algún tipo de dispersión a partir de otras provincias limítrofes que si cultivan algodón, pero la ubicación de las zonas productoras de algodón en Andalucía (Figura 83) no parece explicar satisfactoriamente la extensión del patotipo D en la provincia de Granada y deben buscarse otras vías de entrada y dispersión en esta zona como por ejemplo, los viveros.

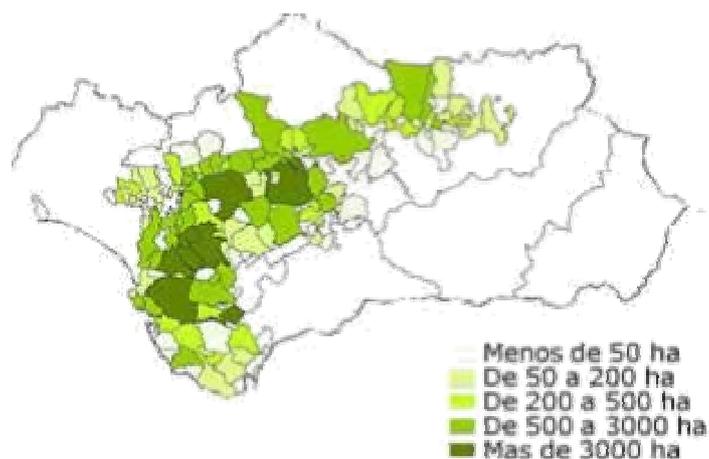


Figura 83. Distribución del cultivo de algodón en Andalucía. Imagen procedente de: (DAP, CAP Junta de Andalucía)

En España el papel en la extensión de *V. dahliae* mediante la distribución y utilización de plantones infectados para establecer nuevos olivares fue señalado por Jiménez Díaz y colaboradores (1984). Posteriormente ha sido demostrado en Grecia (Thanassouloupoulos, 1993), y recientemente en Italia, donde un 50% de los olivos procedentes de vivero estaban infectados por este patógeno (Nigro et al., 2005).

Nuestros resultados muestran una relación estadísticamente significativa entre la VO y mayor prevalencia de VO en plantas obtenidas de vivero, especialmente en las comarcas de Levante, Alhama y la del Sur, y concretamente, el aislado D apareció exclusivamente asociado a los viveros en comarcas como Levante y Alhama. La importación del aislado D a los suelos agrícolas granadinos ha debido estar relacionada con viveros fuera de Granada, ya que se observó altos porcentajes de prevalencia en aquellas plantas procedentes de fuera de Granada, concretamente de Jaén y Córdoba. Por el contrario, la prevalencia en las plantaciones con los olivos

obtenidos por el método tradicional a partir de estaca fue la más baja. Esto es lógico si tenemos en cuenta que en Andalucía la producción comercial de plantones de olivo implica el crecimiento de estos en bolsas de plástico de 2 o 3 L de suelo durante varios meses. Estos sustratos están constituidos por suelos arenosos de origen aluvial o suelos arcillosos de campos cultivados; en ambos casos, estos sustratos pueden estar infectados por patógenos de suelo, incluyendo nematodos fitoparásitos (Nico et al., 2002). Además, es posible que para la producción de plantas de vivero se empleen ramas o brotes procedentes de árboles recuperados de la enfermedad, lo que puede facilitar de forma involuntaria la dispersión del patógeno mediante la utilización de material de plantación sin síntomas pero portador de *V. dahliae* que se manifestará más tarde. Esto sin duda ha determinado la extensión rápida de la Verticilosis del olivo en países como Grecia y Jordania, en particular favorecida por el establecimiento de los viveros en lugares cercanos a zonas intensamente infectadas por el patógeno (Naser y Al-raddad Al-Momany, 1998).

Las plantaciones dobladas son aquellas que intercalan olivar adulto de variedades principales o locales de la zona y cuyo origen suele ser tradicional a partir de estaca, con olivar joven de variedades mucho más productivas desde un punto de vista económico, y que, en algunos casos, no son características de la zona y proceden de viveros. Normalmente, se produce un incremento de la densidad de plantación existente lo que produce una reducción del marco de plantación. Las plantaciones dobladas constituyen un ejemplo idóneo para poder explicar rutas concluyentes de introducción del patógeno, precisamente, porque utilizan ambos métodos de obtención de material vegetal. Las plantaciones dobladas obtuvieron justo un valor de prevalencia intermedio a los dos sistemas de establecimiento de nuevas plantaciones. Estos resultados refuerzan la idea de que los viveros juegan un papel muy importante como vía de entrada del patógeno en la provincia de Granada y debe estar relacionada con la aparición de Verticilosis del olivo en las nuevas plantaciones en suelos no agrícolas, o recientemente cultivados, o donde no figura el cultivo anterior de plantas susceptibles a la enfermedad. Por otro lado, las plantaciones de olivos jóvenes situadas en suelos agrícolas sin historial de *V. dahliae* también constituyen una fuente muy valiosa y fiable de información sobre las posibles vías de entrada del patotipo D.

Basándonos en las parcelas dobladas y en parcelas con olivos jóvenes sin historial, se ha seguido el rastro de las 29 parcelas donde se ha detectado aislado defoliante. La información procede de las encuestas agrícolas en cuanto al origen de los olivos y los usos anteriores del suelo. Estos datos se contrastaron con el SIG-PAC y el mapa de usos y coberturas del suelo. De entre las 29 parcelas, hubo 17 donde se ha detectado el patotipo D pero no ha sido posible establecer con seguridad su posible

origen, en el resto de las parcelas, un total de 12, sí ha sido posible reconstruir dicho origen. Se han distinguido las siguientes categorías:

- Plantaciones extensivas en secano pero que han sido recientemente dobladas con olivos jóvenes procedentes de vivero. En la comarca de la Vega se han detectado al menos 3 focos en parcelas en secano, dobladas con olivos de vivero. Una de ellos tiene árboles procedentes de un plantel de Granada y las otras de viveros desconocidos. En esta región hay constancia conocida del aislado al menos desde los años 1999-00. En la comarca del Norte se han localizado dos focos en parcelas dobladas con olivos jóvenes procedentes de viveros de Granada. En esta comarca, el aislado lleva establecido al menos desde el año 1996-97.

- Plantaciones de olivar joven que proceden de vivero, y cuya superficie no consta en el historial de cultivos susceptibles a la VO. En la comarca de Alhama se han podido localizar tres focos diferentes del aislado D en olivos jóvenes, que proceden de tres viveros distintos; dos de ellos de fuera de Granada. En esta zona, el patotipo D lleva establecido al menos desde 1998-99. En la comarca de Levante, se ha registrado una única parcela de olivar joven con el aislado D que, por ahora, constituye el único foco conocido de la zona. Esta parcela comparte el vivero de Jaén con una de las plantaciones anteriormente mencionadas de Alhama. En esta comarca el aislado virulento lleva establecido al menos desde el año 2000-01. En la comarca del Norte se ha localizado una plantación de olivar joven con árboles procedentes de un vivero de Jaén.

- Parcelas extensivas que no han sufrido renovación del olivar. Constituyen un total de dos parcelas. Se ha comprobado la dispersión del aislado D en dos parcelas; una de la Vega y otra en el Norte, en plantaciones sin cambios desde hace tiempo y con olivos centenarios de secano, donde la única vía de entrada de este patógeno es probable que se deba al laboreo, donde se ha utilizado la misma maquinaria que en plantaciones cuyos propietarios manifestaron la existencia de olivos con clara sintomatología de VO.

Dentro de las 17 parcelas donde no se pudo establecer bien el origen del aislado D, cobra especial interés un punto situado en la comarca de la Vega, donde los cultivos de regadío están establecidos por tiempo muy prolongado y donde hubo una alta prevalencia (un 14%) del patotipo D. Esta zona comprende la parte de La Vega del río Genil a su paso por Granada y ha sido zona tradicional de regadío, destacando cultivos herbáceos como el maíz, hortalizas, espárrago, tabaco y alfalfa. En principio, se puede asumir que la vía de entrada del aislado D en estas plantaciones cultivadas con herbáceas de regadío se deba probablemente al uso de material vegetal infectado por el patotipo D, pero es lícito discutir que cabe la posibilidad de que los aislados D

puedan haber evolucionado a partir de las poblaciones nativas ND. Esta idea se basa en estudios muy recientes en Grecia donde han encontrado aislados defoliantes para los que los marcadores moleculares no funcionan, indicando un origen diferente (Collado et al., 2006). Así pues, en el caso de aquellas plantaciones donde el regadío está muy establecido desde hace mucho tiempo, como es nuestro caso en estas plantaciones de la Vega, cabe la probabilidad de que los aislados D hayan surgido a partir de las poblaciones nativas ND. Esta idea se puede reforzar con estudios muy recientes que han determinado que hay diferencias genéticas dentro de un mismo grupo de VCG. En cultivos de alcachofa en Valencia, aislados del patotipo ND, pertenecientes a un grupo de VCG diferente al grupo de los aislados D, quedan situados genéticamente más cerca de los aislados D. Por lo tanto, también es posible que exista variabilidad dentro de los aislados defoliantes, aunque amplifiquen la banda característica del patotipo D (Jiménez Díaz et al., 2006).

En el caso de la comarca de la Vega, para poder sustentar la hipótesis de la introducción frente a una evolución de las poblaciones nativas ND, se hacen necesarios estudios moleculares posteriores de los aislados. Derivado de este estudio de prospección, se ha conservado una colección de todos los aislados de *V. dahliae* obtenidos (uno por parcela oleícola). Un estudio de genética de poblaciones ulterior podría contribuir al conocimiento del origen y distribución del patógeno en los olivares andaluces. Estos estudios proporcionan información sobre la estructura poblacional y la naturaleza de la variación genética que existe en las poblaciones naturales. La cantidad de variación genética de una población es un parámetro fundamental porque determina el potencial evolutivo de la misma.

Además del papel de los viveros, la VO está relacionada con el establecimiento de plantaciones de olivar en suelos infectados por el patógeno. De forma general, nuestros resultados muestran que las mayores tasas de VO se situaron en las superficies cuyo uso tradicional es el de regadío, obteniéndose un valor máximo de prevalencia del 56% en olivares donde el uso anterior del suelo coincidió con cultivos herbáceos en regadío, seguidas de las superficies en secano, y por último, en superficies donde se han situado espacios naturales. La relación entre la Verticilosis y la plantación de olivos sobre suelos cultivados previamente con cultivos susceptibles, es un hecho ampliamente observado (Cirulli, 1981; Naser y Al-raddad Al-Momany, 1998; Serrhini y Zeroual, 1995; Tjamos, 1993;). En Italia, Nigro y colaboradores (2005) registraron una incidencia máxima de la enfermedad, sobre el 83%, en aquellas parcelas donde se establecían cultivos intercalares de patata, tomate y alcachofa, indicando que los residuos de estos cultivos deben inevitablemente enriquecer el suelo con los propágulos de *V. dahliae*. En España, Jiménez Díaz y colaboradores (1984),

apuntaron que la severidad de esta enfermedad en las nuevas plantaciones era mayor en olivares regados y con cultivos intercalares o anteriores de otras plantas susceptibles como algodón, cártamo y girasol.

Además, se sabe que los niveles de inóculo de *V. dahliae* en el suelo tienen un papel fundamental en su epidemiología. Es decir, la cantidad de enfermedad que se originará en un olivar está determinada por la densidad de inóculo en el suelo al comienzo del cultivo (cantidad de microesclerocios existentes por unidad de peso o volumen de suelo), además de por la tasa de infección (eficacia del inóculo). La densidad de inóculo en el suelo de *V. dahliae*, puede ser determinada mediante el análisis cuantitativo del número de microesclerocios existentes. En ausencia del análisis del suelo, la historia de cultivos anteriores a la plantación puede ser indicativa para estimar la presencia del patógeno y el nivel de infección del suelo (Blanco López et al., 1994). En nuestro caso y en condiciones naturales, se puede suponer que la frecuencia de encontrar Verticilosis es superior en las parcelas que cuentan en su historial con cultivos susceptibles, se suponen una mayor cantidad de inóculo en el suelo como consecuencia del cultivo prolongado de plantas susceptibles a *V. dahliae*. Mientras en las superficies forestales y/o naturales, donde la prevalencia es menor, la cantidad del hongo en el suelo debe ser necesariamente más reducida. Como referencia, Bejarano Alcázar y colaboradores (1994) demostraron que tras un año de cultivo de algodón la densidad de microesclerocios se elevó entre 6 y 13 unidades por gramo de suelo. En condiciones de regadío la prevalencia de la enfermedad puede verse acrecentada, ya que las plantas cultivadas en regadío son los huéspedes típicos de *V. dahliae*, además en estas condiciones, se suma el efecto beneficioso observado del agua sobre el hongo.

En tierras típicamente de secano, o “tierra calma”, se cultivan generalmente cereal, leguminosas y barbecho. Por esta razón, según nuestros resultados, hay una correlación entre la VO y el hipotético potencial infectivo del suelo, detectándose valores mayores de prevalencia de la enfermedad a medida que aumenta el supuesto grado de contaminación del suelo.

Por otro lado, en los suelos tradicionalmente dedicados al secano, se ha registrado mayor frecuencia del patotipo D, mientras que el patotipo ND ha sido más frecuente en suelos tradicionalmente dedicados al regadío. Esta distribución responde a lo observado sobre la asociación estadística del aislado ND a olivares con condiciones de humedad más altas que del aislado D.

4.4 LA VERTICILOSIS DEL OLIVO Y ASPECTOS AGRONOMICOS RELACIONADOS

4.4.1 Riego

El riego es una práctica agronómica que ha provocado un aumento de la prevalencia de la enfermedad. Nuestros resultados muestran prevalencias del 25,6% en parcelas con riego y del 8,5% en las de secano. Se obtuvieron los mismos resultados en las cinco comarcas olivareras, aún teniendo en cuenta que las características agronómicas y geográficas originan paisajes y tipos de olivares muy diferentes. La relación del agua y la prevalencia de la enfermedad es un hecho observado por otros autores y en distintos tipos de olivares. Nuestros resultados son coincidentes con los de otros autores (Cirulli, 1981) dentro y fuera de España, como por ejemplo en Marruecos, donde las prevalencias para secano y regadío fueron del 9% y 21% (Al- Ahmad y Mosli, 1993), en el sur de España donde supusieron el 17% y 40% (Blanco López et al., 1984); en Siria con valores del 4,5% y 13% (Serrini y Zeroual, 1995) o más recientemente en Jaén donde se alcanzaron cifras del 55,9% en secano y del 62,3% en regadío (CAP, 2001).

La incidencia de la enfermedad fue prácticamente igual en secano y regadío. Este resultado se puede explicar mediante la abundancia relativa de cada uno de los patotipos en secano y regadío y la incidencia de cada uno de ellos en estos regímenes de cultivo. El patotipo ND posee una incidencia similar en secano y regadío y el patotipo D posee una incidencia superior en secano próxima al valor medio y próximo a los valores del patotipo ND, mientras que posee una incidencia muy baja en condiciones de regadío. Debido a que en regadío la importancia relativa del patotipo D es mínima respecto a la del ND, el peso específico de los niveles de incidencia recaerá especialmente en el patotipo ND.

La humedad del suelo es un aspecto que indirectamente va a estimular la ocurrencia de infecciones futuras y el subsiguiente desarrollo de la enfermedad ya que ayuda a mantener temperaturas adecuadas y una condición de humedad constante. Al respecto, existen antecedentes que señalan que la relación entre el agua y la severidad e incidencia de la enfermedad esta relacionada con una mejor y mayor supervivencia, germinación y multiplicación de los propágulos de *V. dahliae* (microesclerocios) en el suelo. Esto fue demostrado por Karaca y colaboradores (1971) al comprobar que la temperatura en el suelo en campos de algodón en el mes de julio y antes del riego variaba entre 33-34,7°C. Estos valores inhibían la germinación de los microesclerocios, mientras que después del riego, las infestaciones eran posibles debido a una bajada de la temperatura hasta los 28-24°C, provocadas por la

evaporación del agua. En el caso del olivar, se ha demostrado que la cantidad de inóculo del patógeno en el suelo aumenta con el riego localizado o por goteo (López Escudero y Blanco López, 2005b). Sin embargo, este efecto puede ser limitado, ya que en situaciones extremas, ya sea de excesos de agua (inundaciones) como de falta en períodos de sequía prolongada, se afectan los microesclerocios, disminuyendo el potencial infectivo de los suelos. No obstante, es importante señalar que debido a la gran cantidad de plantas huésped del patógeno, éste puede mantenerse en los suelos en condiciones extremas por un período prolongado.

La respuesta de los MC de *V. dahliae* a exudados radicales es de 100 a 300 µm de distancia, y debido a que los MC tienen una movilidad reducida en el suelo, el crecimiento extensivo del sistema radical es muy importante en la interacción inicial patógeno-raíz. El riego promueve un aumento y condiciona la distribución de las raíces, por lo que incrementa la probabilidad de interacción de ambos sistemas, ya que las raíces crecen en las zonas superiores del suelo, en las que el nivel de inóculo del patógeno es más elevado (Bowers et al., 1996; Huisman, 1982). Esto ha sido comprobado recientemente por Xiao y Subbarao (2000) en cultivos de coliflor con diferentes regímenes de riego. Estos autores observaron que la infección por *V. dahliae* afectaba a los procesos vasculares de la coliflor además de un aumento en la longitud de las raíces, lo que supuso en parcelas infectadas con *V. dahliae* mayores tasas de incidencia y severidad de la enfermedad.

El efecto favorecedor del riego sobre la Verticilosis va a depender mucho del cultivo, tipo de suelo y condiciones ambientales (Pegg y Brady, 2002). Además, la germinación de los microesclerocios está particularmente estimulada por períodos alternativos de riego y sequía. Schenieder (1948) determinó que el riego tenía especial importancia en ambientes semiáridos donde detectó en cultivo de *Parthenium argentatum*, un arbusto nativo de zonas desérticas mexicanas, que la enfermedad aumentaba conforme se incrementaba la frecuencia de riego. Schnathorst (1981) encontró que la VO no afectaba a determinados huéspedes resistentes a la sequía hasta que se establecía el riego, momento en el cual empezaban a aparecer los problemas. En este sentido, el olivo es un cultivo tradicionalmente de secano, adaptado al clima mediterráneo, con largos períodos estivales de sequías seguidos de estaciones lluviosas, por lo que es posible que haya respondido de forma especialmente rápida a los ataques de la VO y al efecto favorecedor del agua.

El tipo de riego también puede influir. Se ha comprobado en estudios experimentales de algodón que el desarrollo epidémico de la enfermedad estuvo más influenciado por la profundidad del riego, que osciló desde los 334, 468 y 581 mm, aumentando la incidencia a mayor profundidad, que por la frecuencia del mismo,

aunque los resultados dependían de los cultivares de algodón (Blanco et al., 1998). Xiao y colaboradores (1998) no encontraron diferencias en el cultivo de coliflor entre el tipo de riego (por gravedad y localizado), aunque la intensidad y la severidad de la enfermedad fue significativamente menor en los campos con menor régimen hídrico.

Como se observa, la relación de la enfermedad y el régimen hídrico ha sido objeto de estudio por parte de muchos autores, sin embargo, no hay literatura que evalúe el efecto de la humedad sobre los dos patotipos de *V. dahliae*. Nuestros resultados muestran una asociación preferente del patotipo ND a olivares con riego y del D a olivares en seco, aunque ambos aislados poseen más prevalencia en condiciones de regadío. Esto puede deberse a dos motivos diferentes, entre otros. Primero, que ambos aislados tengan requerimientos climáticos diferentes, y segundo que se de un fenómeno de competencia. Con respecto al primer punto, el aislado D tiene una temperatura óptima de crecimiento de 27°C y puede germinar a 33°C, mientras que el aislado ND tiene su óptimo en 24°C y no puede germinar a una temperatura mayor (Pegg y Brady, 2002), por lo que es probable que ambos aislados tengan requerimientos ecológicos diferentes. Con respecto al segundo punto, muy recientemente Martos Moreno (2003) indicó que el aislado no defoliante protege a la planta de manera que interfiere o induce resistencia frente a la infección posterior con el aislado defoliante, de forma que se produce una menor cantidad de enfermedad. Este efecto es muy claro en cultivares susceptibles y cuando el intervalo de tiempo entre inoculaciones es considerable, entre cuatro meses y al menos un año. Contrariamente, resultados también muy recientes han puesto de manifiesto, mediante técnicas de PCR a tiempo real, que ambos patotipos pueden co-infectar plantas inoculadas artificialmente, si bien este resultado fue claro para las raíces, no se pudo detectar de forma simultánea la presencia de ambos patotipos en tallos, aunque estos autores sí lograron localizar ambos patotipos en una misma planta de olivo en condiciones naturales (Mercado Blanco et al., 2003a).

Según nuestros resultados, se podría indicar que el patotipo D se desarrolla en aquellas zonas donde el patotipo ND está ausente, en este caso en condiciones de seco. De hecho, en estas condiciones, aparece una concentración de aislados ND, en la parte norte-oeste de la provincia que pudiera estar relacionada con aspectos o condiciones ambientales que se dan en esta zona y que favorezcan la supervivencia y germinación de los MC, aún en condiciones de seco.

4.2.2 Densidad de plantación

En condiciones naturales, el aumento de la densidad de plantación provocó un incremento en la incidencia de la enfermedad. La presencia de mayor número de árboles en una misma superficie provoca un aumento del sombreado y de la humectación foliar, lo que favorece el desarrollo de hongos patógenos en el olivar, como es el caso de *Colletotrichum*, causante de la Antracnosis o aceituna jabonosa (Sánchez et al., 2004).

Nuestros resultados muestran que el aumento de la densidad de plantación está relacionado no sólo con la incidencia de la enfermedad, sino también con su prevalencia. En este caso, el estableciendo del riego en olivares con altas densidades de plantación, supuso además un aumento en la frecuencia de aparición de la enfermedad. La relación entre la VO y la densidad de plantación suele ser compleja y puede estar determinada o depender de otros factores como la irrigación y el tipo de suelo. En general, la mayoría de los estudios realizados sobre el efecto de la densidad de plantación en la incidencia y severidad de la Verticilosis se han efectuado en algodónero y, paradójicamente, son opuestos a los que se han obtenido para olivar, porque un aumento de la densidad se traduce en un aumento del rendimiento y en una disminución de plantas enfermas. En algodón se practican densidades de plantación mucho más elevadas que en el olivar. La incidencia prevista de la enfermedad es proporcional al tamaño del sistema radicular de la planta, así que en sistemas de altas densidades como algodónero, el sistema radicular tiene un tamaño determinado y por lo tanto ocurre una tasa de infección constante de la raíz por unidad de suelo (Pegg y Brady, 2002). Sin embargo, en olivar es diferente. El desarrollo del sistema radicular del árbol está principalmente regulado por las características fisicoquímicas del suelo, adaptándose a la profundidad del terreno según su textura y estructura, y de cómo se haya originado el árbol. Si el árbol se ha producido por propagación vegetativa, mediante enrizamiento de estaquillas semileñosas (método habitual en árboles comerciales), se forman múltiples raíces adventicias que actúan como raíces principales no muy profundas y ampliamente extendidas, efecto que queda acusado en condiciones de regadío (Loussert y Brousse, 1980; Navarro y Parra, 2001). Así en olivar, un aumento de densidad implica que una unidad de volumen de suelo contaminado pueda ser explorada por varios olivos a la vez y aumentar así la prevalencia.

4.4.3 Edad

Nuestros resultados concuerdan con los de otros autores que indican que la VO es una enfermedad que afecta severamente al olivar, ya sean árboles adultos como

jóvenes (Jiménez Díaz et al., 1998; Nigro et al, 2005; Sánchez Hernández et al., 1998). No obstante, en nuestro estudio, tanto la prevalencia como la incidencia de la VO fueron superiores en olivos jóvenes. La prevalencia fue superior en plantaciones de 8-12 años que en las de árboles muy jóvenes de 0-7 años. Esto es lógico si tenemos en cuenta que la enfermedad tarda hasta dos años en manifestarse, aunque puede aparecer antes en función de la susceptibilidad del cultivar y de la cantidad y virulencia del patógeno en el suelo, además de las condiciones ambientales (Blanco López et al., 1994). La prevalencia superior encontrada en olivos jóvenes puede también ser consecuencia de que los olivos nuevos normalmente proceden de viveros y además, muchas plantaciones nuevas se han situado en suelos infectados por el patógeno, por lo tanto, la probabilidad de afectación de olivos más jóvenes es lógicamente mayor.

En Grecia, los resultados indican que las plantaciones de 5-6 años de edad son las más susceptibles (Thanassouloupoulos et al., 1979), mientras que nuestros datos concuerdan más con los registrados en Maruecos (Serrhini y Zeroual, 1995), España (Blanco López et al., 1984) y Siria (Al-Ahmad y Mosli, 1993) donde la enfermedad es más habitual en árboles de 8-15, 4-10 y de 10 años de edad, respectivamente. Estudios más recientes llevados a cabo en Jaén, muestran que la VO es más frecuente cuando los olivos cuentan con edades entre los 11 y los 20 años (CAP, 2001). En cuanto a la incidencia, se observa que el mayor número de olivos enfermos se produce cuando los olivos cuentan entre los 0-12 años. Resultados similares se obtuvieron en Jaén, donde las plantaciones de 4-10 años fueron las más afectadas.

Esta variabilidad en los valores de prevalencia e incidencia de la VO a diferentes edades tiene mucho que ver con el régimen de cultivo al que estén sometidas las parcelas de estudio. Según nuestros resultados, el regadío aumenta la prevalencia de la enfermedad en olivos muy jóvenes. Sin embargo, el análisis de la incidencia resulta más complicado. El patrón de incidencia de la enfermedad en plantaciones en secano es radicalmente diferente al de las plantaciones en regadío. Mientras que en regadío hay mayor número de olivos enfermos en las plantaciones de 0-7 años, seguida muy de cerca por las plantaciones de 8-12 años de edad, en las parcelas de secano, el valor máximo se alcanza en olivares de 12-40 años, siendo la incidencia mínima en olivos muy jóvenes, y aumentando en olivos de 8-12 años a los niveles de las plantaciones en regadío. Por lo tanto, se puede indicar que el regadío produce una expresión temprana de la enfermedad y provoca epidemias a edades más tempranas, mientras que el secano retrasa el proceso de infección y la enfermedad tarda mucho más tiempo en desarrollarse. Existen una serie de variables o de condiciones que hacen que, en condiciones de secano, la incidencia de la enfermedad se dispare en este rango de edad. Por un lado, el olivar en este rango de edad (13-40 años), es en un

80% de secano y se sabe de la asociación del aislado D al secano. Además, la comarca del Norte es la principal representante del olivar de 12-40 años, y es en esta comarca donde el aislado D tuvo una mayor incidencia. Esto indica, que en esta zona, las infecciones del patotipo defoliante causan epidemias más severas que las producidas por el aislado no defoliante.

Por otro lado, la incidencia de la Verticilosis fue muy baja en olivos adultos, aunque éstos se encuentren bajo régimen de regadío. Es posible que los olivares adultos constituyan un agroecosistema más maduro con un suelo rizosférico más rico y diverso que las jóvenes plantaciones de olivar. De hecho, una de las tecnologías emergentes aplicable en la industria viverística es la mejora de los sistemas de producción de plántones de olivos de calidad mediante la aplicación extensiva de micorrizas y rizobacterias, confiriéndoles nuevas capacidades de protección frente a patógenos (Barea et al., 1998). Reducciones en la diversidad incrementan la vulnerabilidad del ecosistema a invasiones de agentes nocivos (Kops et al., 1999) lo que puede haber contribuido a una mayor incidencia de enfermedades como es el caso de la Verticilosis. También puede ocurrir que un árbol adulto tenga un sistema de defensa más desarrollado que uno joven.

Con respecto a los patotipos, es destacable que en olivos de más de 40 años de edad, el aislado D representa una contribución a la prevalencia del 56%. Sin embargo, a pesar de infestarse por el aislado más virulento, la incidencia y la prevalencia media provincial de la enfermedad en este rango de edad es la más baja registrada tanto en plantaciones de secano como en las de regadío.

En resumen se puede decir que la VO es una enfermedad que afecta severamente al olivar, ya sean árboles adultos como jóvenes. Sin embargo, el olivar joven ha presentado una mayor prevalencia e incidencia de la enfermedad. A su vez estos parámetros dependen del régimen de cultivo de las plantaciones afectadas. Así, las mejores condiciones de crecimiento y desarrollo para el hongo producidas en plantaciones de regadío, adelantan el proceso de infección por *V. dahliae* con respecto a las de secano, produciendo una expresión temprana de la prevalencia e incidencia de la enfermedad. Por otro lado, las plantaciones de olivar antiguo de más de 40 años infectadas son poco frecuentes, y sí resultan afectadas, cabe una probabilidad de más del 50% que esté infectada por el aislado D, valor que aumenta si el olivar es de secano.

4.4.4 Variedades

La solución más eficaz para combatir la VO consiste en la puesta en práctica de una estrategia de control integrado. A largo plazo, unas de las herramientas más eficaces es el empleo de variedades tolerantes en las nuevas plantaciones y, especialmente, en las de riego, de ahí la importancia de conocer la resistencia de los distintos cultivares a la enfermedad y sus patotipos (Blanco López y López Escudero, 2005). Por esta razón, se han llevado a cabo numerosos estudios con tales fines normalmente mediante inoculaciones artificiales y bajo condiciones controladas de laboratorio que favorecen el desarrollo de la enfermedad. Estos estudios se han realizado especialmente sobre las variedades principales o las más interesantes desde el punto de vista agronómico (Jiménez Díaz et al., 1998). Por ejemplo, Barranco y Rallo señalaron en el año 1984 la susceptibilidad de la variedad Picual a la VO. Martos Moreno (2003) comprobó la elevada susceptibilidad de Picual, Picudo y Cornicabra frente a la respuesta más resistente de Frantoio, Empeltre y Changlot Real. Raya Ortega, (2005) identificó a las variedades Oblonga, Aggezi Shami-1 Frantoio, Changlot Real y Dolce Agogia como variedades resistentes o moderadamente resistentes.

El valor de nuestro estudio radica en corroborar o rebatir aspectos de resistencia demostrados en estudios de inoculaciones artificiales con resultados obtenidos en condiciones naturales y bajo una gran cantidad y variabilidad de prácticas agronómicas y de condiciones ambientales.

Según nuestros resultados, en condiciones de campo, a excepción de la variedad Lucio, todas las variedades de olivo son susceptibles de ser afectadas por VO y por sus patotipos, aunque en diferentes proporciones, y ninguno de estos cultivares ha sido resistente a la variante más patogénica. Los resultados obtenidos para la variedad Lucio pueden deberse bien a que el cultivar muestre cierta resistencia a la enfermedad, o bien a que las parcelas de esta variedad no hayan sufrido el proceso de renovación que ha afectado al olivar, al tratarse de una variedad poco productiva. No obstante, resultaría interesante llevar a cabo estudios de resistencia de este cultivar a la VO y sus patotipos ya que podría utilizarse como pie para injertos en plantas jóvenes de variedades comerciales en suelos con altas densidades de inóculo. Este tipo de ensayos se han realizado con injertos de plantas jóvenes de variedades comerciales como Cornicabra en cultivares resistentes, como Frantoio, y se ha demostrado que reducen la susceptibilidad a *V. dahliae* (Porrás Soriano et al., 2003). También se ha observado que la incidencia de enfermedad en variedades injertadas sobre patrones más resistentes es menor que la observada en estas mismas variedades desarrolladas sobre su propia raíz (Martos Moreno, 2003).

Como resultados más destacables en nuestro estudio se ha encontrado que aunque la variedad Hojiblanca fue la segunda en abundancia, siempre obtuvo valores de prevalencia bajos, mientras que la variedad Picudo tuvo los mayores valores de prevalencia a pesar de ser una variedad escasa. Además, Picudo resultó ser la variedad más afectada por el aislado D. Esto puede lanzar la idea de cierta resistencia de Hojiblanca y cierta susceptibilidad de Picudo en condiciones de campo. La enfermedad ha sido muy prevalente en las plantaciones de Arbequina, a pesar de ser poco abundantes. Además este cultivar ha mostrado niveles de severidad altos frente al aislado ND. Esta variedad fue catalogada en principio como tolerante a la enfermedad (Wilhelm, 1981), pero estudios posteriores (López Escudero et al., 1996), pusieron de manifiesto su susceptibilidad. Nuestros resultados ratifican este último punto.

Recientemente, se han analizado en condiciones de cámara de ambiente controlado que simulan condiciones naturales, las reacciones a las infecciones por *V.dahliae* de los 23 principales cultivares empleados en las zonas oliveras (López Escudero et al., 2004). Entre otros resultados, todas las variedades incluidas en nuestro estudio se clasifican como susceptibles para el patotipo ND y extremadamente susceptibles para el patotipo D, según una escala establecida para asignar niveles de resistencia (López Escudero, 1999; Martos Moreno, 2003; Raya Ortega, 2005). Sin embargo, según nuestros resultados, hay una gran variabilidad en la respuesta varietal del olivo a *V. dahliae*. Esto se debe principalmente a que en condiciones de campo, la resistencia de una variedad está afectada por una serie de condicionantes que pueden modificarla, como por ejemplo el potencial de inóculo en el suelo (cantidad del hongo y virulencia del mismo), ya que puede haber diferentes mezclas y proporciones variables de los aislados. A esto se suma el efecto de factores ambientales de cada zona, así como la diversidad de prácticas agronómicas aplicadas en cada caso. Por ello, al hablar de resistencia a *V. dahliae* es necesario definir todos los componentes del sistema que intervienen aparte de la variedad (Raya Ortega et al., 2005).

No se ha encontrado una relación estadísticamente significativa entre la VO y determinadas variedades de olivo, tanto en el estudio pormenorizado del análisis varietal por rango de edad, como en el estudio comarcalizado. Con respecto al primer punto, la prevalencia depende de la edad de los olivos y no de la variedad de los mismos, ya que, los mayores valores de prevalencia se obtuvieron cuando los olivos constituyen plantaciones jóvenes entre los 8-12 años de edad, algo menos en olivos de menos de 7 años, y más bajos en el resto de los estratos, independientemente de la variedad. Con respecto al análisis comarcal, los resultados de prevalencia varían dependiendo de la zona, de forma que determinados cultivares con valores de

prevalencia altos en una comarca, no lo presentan en otras comarcas. Esto sugiere que, efectivamente, en la infección por Verticilosis, intervienen otros factores distintos de la variedad de mayor importancia, y que se han analizado en este estudio como son el regadío, la densidad de plantación y la edad, así como otros muchos más difíciles de cuantificar debido a su variabilidad como son el manejo del cultivo por parte del agricultor o aspectos ambientales.

Resultados también muy diversos se obtuvieron en el caso del análisis de la severidad. Las variedades locales de la comarca del Norte mostraron niveles de severidad de la enfermedad muy alta a los aislados D, por el contrario, las variedades locales de la comarca de Alhama fueron más resistentes a este mismo aislado, lo que podría sugerir que se tratara de aislados D diferentes. En el caso de Lechín de Granada, los niveles de severidad del aislado ND fueron bajos, esto puede responder al hecho de que, según los datos desprendidos de las encuestas y del personal técnico, es frecuente en la comarca del Sur injertar las variedades autóctonas como Lechín sobre acebuches.

Como demuestran las inoculaciones artificiales en ambiente controlado, y en infección natural, la infección de cultivares de olivo susceptibles como Arbequina y Picual por el aislado ND produce síntomas moderados, y las plantas pueden recuperarse de la enfermedad (Mercado Blanco et al., 2001; Rodríguez Jurado, 1993). Por el contrario, las infecciones por el aislado D pueden ser letales para este tipo de cultivares (López Escudero, 1999; Rodríguez Jurado, 1993). En nuestro caso nuevamente, la reacción en campo es bien diferente a la descrita en condiciones de inoculaciones artificiales, ya que el aislado ND puede causar la muerte de ramas o de la planta completa. Por ejemplo, en el caso de la variedad Picual, el aislado ND causó la aparición de plantas muertas en la comarca del Sur pero no en la comarca de Levante, y aunque el aislado D fue prevalente en la comarca de Alhama, no se registró ningún caso de árbol muerto. En enfermedades vasculares como la Verticilosis, la resistencia o susceptibilidad al patógeno puede estar correlacionada con la extensión o colonización vascular. En este sentido Mercado Blanco y colaboradores (2003) midiendo las cantidades de patógeno (expresada como cantidad de ADN) en la planta, concluyeron que éstas dependían más del genotipo del olivo que de la virulencia del patotipo que infectaba la planta.

Así pues, los cultivares se afectan en función de sus proporciones, lo que indica que el cultivar es una variable concomitante con la edad. Además es muy probable que también muestre concomitancias con otras variables. Así por ejemplo, se observa que el cultivar Picual no solo es más abundante en plantaciones jóvenes, sino que se siembra preferentemente en regadío, y/o posee mayores densidades. Por todo ello, se

puede señalar que, el cultivar puede ser una variable que determine o afecte a la prevalencia de VO, pero no es la que origina el problema.

4.5 LA VERTICILOSIS DEL OLIVO Y LAS VARIABLES AMBIENTALES RELACIONADAS

Es frecuente que en la literatura se reseñe el papel que juegan las condiciones ambientales tanto sobre la epidemiología de *V. dahliae*, ya sea para discutir susceptibilidad o resistencia de una planta, que puede verse afectada por factores como la humedad o la temperatura, como sobre severidad y expresión temprana de los síntomas, e incidencia y distribución de la enfermedad. En el caso de la VO, Blanco López y Jiménez Díaz (1995) especulan sobre la ocurrencia de lluvias abundantes en otoño y temperaturas moderadas en otoño e invierno favorecen los ataques de la enfermedad.

La temperatura es probablemente la variable ambiental más estudiada en marchiteces producidas por Verticilosis. La temperatura se considera el factor más decisivo en aspectos como la germinación y el desarrollo de la enfermedad en las diferentes especies de *Verticillium* e incluso en la distribución geográfica entre *V. dahliae* y *V. albo-atrum* (Pegg y Brady, 2002). La temperatura también determina el óptimo de crecimiento "in vitro" de los dos aislados de *V. dahliae*, de manera que el aislado D tiene una temperatura óptima de crecimiento de 27°C y puede germinar a 33°C, mientras que el aislado ND tiene su óptimo en 24°C y no puede germinar a una temperatura mayor (Pegg y Brady, 2002). Por ejemplo, en algodónero, las elevadas temperaturas disminuyen la infección por Verticilosis y producen la recuperación de la planta (Bell y Presley, 1969). Este efecto parece depender del aislado existente, de forma que el defoliante es afectado en menor grado por la temperatura que el no defoliante (Willie y DeVay, 1970).

En nuestro estudio, la VO fue más prevalente cuando la temperatura media anual es de 17°C, y poco frecuente cuando la temperatura media es de 12°C, y es justo en estos rangos más extremos donde la enfermedad provoca una mayor incidencia. Si tenemos en cuenta el régimen de cultivo, la enfermedad se distribuye principalmente a 16°C de media anual en condiciones de secano, mientras que cuando las plantaciones están en regadío se distribuye en zonas más frías con un grado medio menos de temperatura media anual. Con respecto a la temperatura, Wilhelm y Taylor (1965), señalaron que la manifestación sintomatológica, y por lo tanto la severidad de la infecciones, es favorecida por temperaturas del aire que no excedan de los 20-25°C durante el día en primavera, seguidas por temperaturas ligeramente más elevadas y

ampliamente fluctuantes durante el verano, con máximas diarias de 30-35°C. En condiciones experimentales, la Verticilosis suele ser más severa con temperaturas de 21-27°C, con un máximo a 24°C, que coincide con el óptimo térmico de crecimiento del hongo “in vitro”.

Los mayores valores de prevalencia de la VO observados bajo ciertas variables estudiadas como son, las bajas pendientes, la poca altitud y los suelos correspondientes con la Unidad del tipo 2, están íntimamente interrelacionados entre sí. En realidad, la mayor probabilidad de encontrar VO en plantaciones con bajas pendientes y poca altitud son una consecuencia del tipo de suelo, ya que la Unidad 2 se corresponde con tierras de vegas fértiles, intensamente cultivadas, que normalmente se sitúan por debajo de los 300 msnm y en relieves casi planos con pendientes inferiores al 2%. Este tipo de suelo también se caracteriza por tener pH alcalino. La relación entre el pH del suelo y la Verticilosis ha sido estudiada en algodónero, donde la VO se desarrolla en suelos con pH comprendidos entre 6-9, mientras que valores por debajo de 5,5 inhibe el crecimiento de los microesclerocios (Pegg y Brady, 2002).

Otros suelos con alta prevalencia de la VO fueron los correspondientes con la Unidades 41 y 15. Con respecto a la primera, se caracteriza por ser suelos con un alto contenido en sal. La relación entre suelos salinos o de cultivos regados con aguas salinas se ha estudiado tanto en olivar (Levin et al., 2003) como en otros cultivos (Pegg y Brady, 2002), y afecta tanto a la distribución de la enfermedad como a la severidad de la misma, provocando un aumento exacerbado de los síntomas. En lo referente a la Unidad 15, se corresponde con suelos que se distribuyen desde los 200 msnm hasta los 1600 msnm, y su característica principal es que están fuertemente socavados y presentan altas pendientes de más del 25%. Tienen alta pedregosidad y escaso suelo. Estos datos deben de estar relacionados con la alta prevalencia de la VO en suelos con pendientes altas del 30-45%. Son por lo tanto, suelos raquíuticos con muy poco espesor y pobres en materia orgánica. A tal efecto, Wilhem y Taylor (1965) recomendaron incorporar materia orgánica (aserrín, estiércol, tejidos vegetales verdes, etc.) al suelo en la zona radical del árbol enfermo, con objeto de estimular la actividad microbiana antagonista de *V. dahliae* en la rizosfera de éste. En este caso, esta práctica podría ser especialmente interesante en suelos infectados por VO situados en pendientes de más del 30%.

La precipitación resulta una variable ambiental muy interesante de analizar puesto que, entre los factores ambientales que influyen sobre la infección del olivo por *V. dahliae*, tiene especial consideración la humedad del suelo. Blanco López y colaboradores (1990) hicieron un seguimiento durante seis años sobre el desarrollo

sintomático de la Verticilosis en dos parcelas de olivo para estudiar el fenómeno de recuperación natural de los síntomas y observaron un decaimiento general de los mismos a lo largo del tiempo, a excepción de un año en el que hubo abundante pluviometría en otoño y primavera. De nuestros resultados se puede deducir que no solo la enfermedad es más prevalente en condiciones de regadío, sino que su incidencia es también mayor, además de adelantar el proceso de infección en olivos muy jóvenes. La VO ha mantenido valores de prevalencia cercanos al valor medio provincial en todos los rangos de pluviosidad analizados. Sin embargo, si comparamos plantaciones de secano y regadío, el establecimiento del riego provoca una ampliación del rango de distribución en el que aparece la VO. Es decir, el riego puede provocar la aparición de la VO en aquellas parcelas que, en condiciones de secano y debido a su pluviosidad media, no aparecería. Además en regadío, los valores de prevalencia son muy parecidos entre los diferentes rangos, por lo que esta práctica aumenta el riesgo en aquellas plantaciones que, si estuviesen en secano, la enfermedad sería menos prevalente.

Conclusiones

1. Un 14,1 % del olivar granadino está afectado por la Verticilosis, con una incidencia de la enfermedad del 1,9%.
2. La Verticilosis del olivo está extendida por toda la superficie de cultivo del olivo en la provincia de Granada, siendo la comarca del Norte la más afectada y la comarca de Alhama la que menos.
3. El patotipo ND de *V. dahliae* es hasta tres veces más frecuente y causó el doble de árboles enfermos que el patotipo D. Los aislados D han resultado ser más frecuentes en la parte norte y oeste de la provincia, mientras que los aislados ND presentan una distribución provincial más homogénea.
4. La Verticilosis del olivo es una enfermedad que afecta principalmente al olivar granadino en regadío, con edades comprendidas entre los 8 y los 12 años y con densidades de plantación de 150-300 olivos por hectárea, independientemente de cual sea la variedad cultivada.
5. El patotipo ND de *V. dahliae* está asociado a las explotaciones en regadío y afecta fundamentalmente a olivos jóvenes con densidades de plantación altas. El patotipo D de *V. dahliae* cobra especial relevancia en las explotaciones en secano y con olivos adultos.
6. El riego favorece el desarrollo de la Verticilosis en las plantaciones de olivos jóvenes, en las parcelas con altas densidades de plantación, y provoca una ampliación en el rango de distribución de la enfermedad en función de la pluviosidad.
7. Las principales vías de entrada y dispersión de la Verticilosis del olivo en la provincia de Granada son el uso de material vegetal infectado procedente de vivero y el establecimiento de olivares en suelos con amplio historial de cultivos susceptibles a *V. dahliae*.

Bibliografia

Páginas webs de interés consultadas:

AAO. Agencia para el Aceite de Oliva. Ministerio de Agricultura y Pesca. (Ref. Febrero 2006). Disponible Web: <http://aao.mapa.es>

COI. Consejo Oleícola Internacional (Ref. Febrero 2006). Disponible Web:
http://www.internationaloliveoil.org/oliveworld_usingoil.asp

IEA. Instituto de Estadística de Andalucía. Consejería de Economía y Hacienda. Junta de Andalucía. (Ref. Febrero 2006). Disponible Web:
http://www.juntadeandalucia.es/iea/anuario/anuario05/cap06/6_1_18.xls

SIG Oleícola. (Ref. septiembre 2006). Disponible Web:
http://w3.mapya.es/dinatierra_v3/

SIG-PAC. (Ref. septiembre 2006). Disponible Web:
[_http://www.mapa.es/es/sig/pags/sigpac/intro.htm](http://www.mapa.es/es/sig/pags/sigpac/intro.htm)

SIGA. Servicio de Información Geográfico Agrario. Ministerio de Agricultura y Pesca. (Ref. septiembre 2006). Disponible Web:
[_http://www.mapa.es/es/sig/pags/siga/intro.htm](http://www.mapa.es/es/sig/pags/siga/intro.htm)

SIMA. Sistema de Información Multiterritorial de Andalucía. Instituto de Estadística de Andalucía. Consejería de Economía y Hacienda. (Ref. septiembre 2006). Disponible Web:
<http://www.juntadeandalucia.es/iea/sima/>

UNCTAD. Naciones Unidas sobre Comercio y Desarrollo. (Ref. Enero 2006).
Disponible en Web: <http://r0.unctad.org/infocomm/espagnol/olivo/plane.htm>

Referencias Bibliográficas

- AGRIOS GN. 1995. Fitopatología. 2ª ed. México, Uteha, Noriega. 838 pp.
- AL-AHMAD MA. 1988. Quantitative survey of Verticillium wilt of olive in southern Syria. Arab Journal of Plant Protection 6: 27-32.
- AL-AHMAD MA, MOSLI MN. 1993. Verticillium wilt of olive in Syria. Bull OEPP/EPPO Bull 23: 521-529.
- ALVARADO M, CIVANTOS M, DURAN JM. 2001. Plagas. En: Barranco D, Fernández Escobar R, Rallo L (eds.). El cultivo del olivo. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 433-493 pp.
- ARAQUE JIMENEZ E, GALLEGO SIMON VJ, SANCHEZ MARTINEZ JD. 2002. El olivar regado en la provincia de Jaén. Investigaciones geográficas, 28: 5-32. Instituto Universitario de Geografía. Universidad de Alicante.
- ARGIMON PALLAS JM, JIMENEZ VILLA J. 2000. Métodos de Investigación Clínica y Epidemiológica. 2ª ed. Madrid. Harcourt.
- ASHWORTH LJ Jr, GAONA SA. 1982. Evaluation of clear polyethylene mulch for controlling Verticillium wilt in established pistachio nut groves. Phytopathology 72: 243-246.
- AVILA CASTRO JL, CIVANTOS CUESTA R, FUENTES LOPEZ M. 2005. Variabilidad patogénica y distribución geográfica de las poblaciones de *Verticillium dahliae* que infectan plantaciones de olivar en la provincia de Jaén. Foro Del Olivar y Medio Ambiente. Expoliva 2005.
- BAILEY KL, LAZAROVITS G. 2003. Suppressing soil-borne diseases with residue management and organic amendments. Soil Tillage Research 72: 169-180.
- BALAZY S, WISNIEWSKI J, KACZMAREK S. 1987. Some noteworthy fungi occurring on mites. Bulletin de l'academie polonaise des sciences-serie des sciences biologiques 35: 197-224.

- BARBARA DJ, CLEWES E. 2003. Plant pathogenic *Verticillium* species: How many of them are there?. *Molecular Plant Pathology* 4 (4): 297-305.
- BARBARA DJ, PAPLOMATAS EJ, JIMÉNEZ DIAZ RM, 1998. Variability in *V. dahliae*. En: Hiemstra JA, Harris DC. (eds.). *A compendium of Verticillium wilts in tree species*. Ponsen and Looijen, Wageningen, The Netherlands. 43-45 pp.
- BAREA JM, AZCON R, AZCON AGUILAR C, JIMENEZ DIAZ. 1998. Potencialidad de la aplicación de micorrizas y rizobacterias en la producción viverística de plantas de olivo. II Jornadas Mediterráneas de olivar ecológico. Ecoliva.
- BARRANCO D, RALLO L. 1984. Las variedades de olivo cultivadas en Andalucía Ed. Instituto de Estudios Agrarios y Pesqueros. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. 387 pp.
- BEAUCHAMP GK, KEAST RSJ, MOREL D, LIN J, PIKA J, HAN Q, LEE CH, SMITH AB III, BRESLIN PAS. 2005. Ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil. *Nature* 437: 45-46.
- BEJARANO ALCAZAR J. 2003. La Verticilosis del olivo: Bases ecológicas y epidemiológicas para el desarrollo de estrategias de control sostenibles en viveros y plantaciones de olivar. 8th Symposium Nacional de Sanidad Vegetal. Sevilla, España. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.
- BEJARANO ALCAZAR J. 2004. Efecto de la biofumigación con pasto de sudán y colza sobre el control de *Verticillium dahliae* en viveros de olivo. XII Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Gerona, España. 283 pp.
- BEJARANO ALCAZAR J. 2004 a. Eficacia de la solarización para la erradicación de *Verticillium dahliae* en viveros de olivo. XII Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Gerona, España. 284 pp.
- BEJARANO ALCAZAR J. 2005. Eficacia de enmiendas orgánicas para el control de la Verticilosis del olivo. Foro del Olivar y Medio Ambiente. Expoliva, 2005.

- BEJARANO ALCAZAR J. 2005 a. Problemática fitosanitaria en la olivicultura de regadío. Adaptado por Pastor Muñoz Cobo M (ed.). En: Cultivo del olivo con riego localizado. 663-710 pp.
- BEJARANO ALCAZAR J, BLANCO LOPEZ MA, MELERO VARA JM, JIMENEZ DÍAZ. 1994. Influence of crop rotation on population of defoliating and nondefoliating pathotypes of *Verticillium dahliae* in field soils. 6th International Verticillium Symposium, Israel.
- BEJARANO ALCAZAR J, BLANCO LOPEZ MA, MELERO VARA JM, JIMENEZ DIAZ RM. 1996. Etiology, importance and distribution of Verticillium wilt of cotton in southern Spain. Plant Disease 80: 1233-1238.
- BEJARANO ALCAZAR J, IBRAHEN MOHAMED MOUSA Y. 2004. Influencia de la flora arvensis del olivar sobre las epidemias de Verticilosis inducidas por los patotipos defoliante y no defoliante de *Verticillium dahliae*. XI Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Almería, España. 200 pp.
- BEJARANO ALCAZAR J, MELERO VARA JM, BLANCO LOPEZ MA, JIMENEZ DÍAZ RM. 1995. Influence of inoculum density of defoliating and nondefoliating pathotypes of *Verticillium dahliae* on epidemics of Verticillium wilt of cotton in southern Spain. Phytopathology 85: 1474-1481.
- BEJARANO ALCAZAR J, PEREZ ARTES E. 2002. Importancia de la Verticilosis del algodón y distribución de patotipos de *Verticillium dahliae* en Andalucía. XI Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Almería, España. 219 pp.
- BEJARANO ALCAZAR J, PEREZ ARTES E, JIMENEZ DIAZ RM. 2001. Spread of the defoliating pathotype of *Veticillium dahliae* to new cotton-and olive-growing areas in Southern Spain. En: Proceedings of the 8th International Verticillium Symposium, Córdoba , España. 57 pp.
- BEJARANO ALCAZAR J, RODRIGUEZ MORCILLO V, CABEZA FERNADEZ. 2004. Virulencia diferencial de los patotipos defoliante y no defoliante de *Verticillium dahliae* sobre especies utilizadas como cubiertas vegetales en olivar. XII Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Gerona, España. 83 pp.

- BELL AA. 1992. Verticillium wilt. En: Hillocks RJ (ed.). Cotton Diseases. CABI, Oxon. 87-126 pp.
- BELL AA. 1994. Mechanisms of disease resistance in *Gossypium* species and variation in *Verticillium dahliae*. en: Constable GA, Forrester NW (eds.). Challenging the Future: Proceedings of the World Cotton Research Conference. Brisbane, Australia. 225-235 pp.
- BELL AA, PRESLEY JT, 1969. Temperature effects upon resistance and phytoalexin synthesis in cotton inoculated with *Verticillium albo-atrum*. Phytopathology 59: 1141-51.
- BELLAHCENE M, FORTAS Z, GEIGER JP, MATALLAH A, HENNI D. 2000. Verticillium wilt in olive tin Algeria: Geographical distribution and extent of the disease. Olivae 82: 41-43.
- BERG G, ZACHOW C, LOTTMANN J, GO"TZ M, COSTA R, SMALLA K. 2005. Impact of Plant Species and Site on Rhizosphere-Associated Fungi Antagonistic to *Verticillium dahliae* Kleb. Applied And Environmental Microbiology 71(8): 4203-4213.
- BLANCO LOPEZ MA, JIMENEZ DÍAZ RM. 1995. Una propuesta de lucha integrada contra la Verticilosis del olivo. Fruticultura Profesional 70: 52-58.
- BLANCO LOPEZ MA, JIMENEZ DIAZ RM, CABALLERO JM. 1984. Symptomatology, incidence and distribution of Verticillium wilt of olive tree in Andalucía. Phytopathologia mediterranea 23: 1-8.
- BLANCO LOPEZ MA, JIMENEZ DIAZ RM, MELERO VARA JM, BEJARANO ALCAZAR J. 1992. Integrated control of Verticillium wilt of cotton by soil solarization and tolerant cultivars. En: Tjamos EC, Papavizas GC,. Cook RJ (eds.). Biological Control of Plant Diseases. Plenum Press, New York. 63-67 pp.
- BLANCO LOPEZ MA, LOPEZ ESCUDERO FJ. 2005. Resistencia y susceptibilidad a la Verticilosis. En: Rallo L, Barranco D, Caballero JM, Del Río C, Martín A, Tous J, Trujillo I. (Eds.). Variedades de olivo en España. (Libro II: Variabilidad y

-
- Selección). Ed. Junta de Andalucía, MAPA y Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 331-338 pp.
- BLANCO LOPEZ MA, MELERO VARA JM, BEJARANO ALCAZAR J, JIMENEZ DIAZ RM. 1987. La Verticilosis: Un serio problema del algodono en Andalucía. Agricultura 664: 784-787.
- BLANCO LOPEZ MA, MELERO VARA JM, JIMÉNEZ DIAZ RM. 1998. Studies on Verticillium wilt in Andalucía - Southern Spain. En : Braud M, Campagne P. (eds.). Le coton en Méditerranée et au Moyen-Orient. Montpellier (France): CIHEAM-IAMM. 225-226 pp.
- BLANCO LÓPEZ MA, RODRIGUEZ JURADO D, JIMENEZ DIAZ RM. 1990. Incidence and seasonal variation of Verticillium wilt in olive orchards. En: Proceedings of the 5th International Verticillium Symposium. St. Petersburg. 5 pp.
- BLANCO LOPEZ MA, RODRÍGUEZ JURADO, JIMENEZ DIAZ RM. 1994. La Verticilosis del olivo. Agricultura 746: 777-780.
- BOULILA M. Las enfermedades del olivo en Túnez. Olivae 85: 22- 25.
- BOWERS JH, NAMETH ST, RIEDEL RM, ROWE RC. 1996. Infection and colonization of potato roots by *Verticillium dahliae* as affected by *Pratylenchus penetrans* and *P. crenatus*. Phytopathology 86 (6): 614-621.
- BOYLE AM. 1963. Pathogenicity of an isolate of *Verticillium albo-atrum* from olive. Phytopathology 53: 242.
- BUSTAMANTE E, RIVAS G. 1998. Elementos e importancia del diagnóstico de problemas fitosanitarios. Revista de Manejo Integrado de Plagas 52.
- CABALLERO JM, PÉREZ HERNANDEZ J, BLANCO-LÓPEZ MA, JIMENEZ DIAZ RM. 1980. Olive, a new host of *Verticillium dahliae* in Spain. Proc. 5th Congress Mediterranean Phytopathol. Union, Patras, 50 pp.

- CABEZA FERNANDEZ E, BEJARANO ALCAZAR J. 2005. Influencia de las cubiertas vegetales sobre la epidemiología y control de la Verticilosis del olivo. Foro Del Olivar y Medio Ambiente. Expoliva 2005.
- CASTILLO P, NICO AI, RAPOPORT HF, JIMENEZ DIAZ RM. 2003. Nematodos fitoparásitos en viveros de olivo. Boletín de Sanidad Vegetal de Plagas 29: 255-263.
- CAP 2001. Memoria anual. Convenio de colaboración entre la Junta de Andalucía y la Denominación de origen "Sierra Mágina" para el estudio de la Seca del olivo.
- CAP 2001 a. Situación del Mercado del aceite de oliva en la campaña 2000/2001. Unidad de Prospectiva. Empresa Pública de Desarrollo Agrario y Pesquero. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía 27 pp.
- CAP 2002 a. Inventario y caracterización de los regadíos de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. CD-ROM
- CAP 2002 b. El olivar Andaluz. Unidad Prospectiva. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. 202 pp.
- CARDER JH, BARBARA DJ. 1991. Molecular variation and restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) with and between six species of *Verticillium*. Mycological Research 95: 935-942.
- CARDER JH, MORTON A, TABRETT AM, BARBARA DJ, 1994. Detection and differentiation by PCR of sub-specific groups within two *Verticillium* species causing vascular wilts in herbaceous hosts. En: Schots A, Dewey FM, Oliver R, (eds.). Modern Assays for Plant Pathogenic Fungi: Identification, Detection and Quantification. Proceedings of COST-88 Meeting, Oxford. Wallingford, UK: CAB International. 91-97 pp.
- CHEN W. 1994. Vegetative compatibility groups of *Verticillium dahliae* from ornamental woody plants. Phytopathology 84: 214 -219.

- CHERRAB M, BENNANI A, CHAREST PM, SERRHINI MN. 2002 Pathogenicity and Vegetative Compatibility of *Verticillium dahliae* Kleb. Isolates from Olive in Morocco. *Journal of Phytopathology* 150 (11-12): 703-709.
- CIRULLI M. 1975. Il deperimento dell'olivo da *Verticillium dahliae* Kleb. *L'Italia agricola*, 112 (6): 120-124.
- CIRULLI M. 1981. Attuali cognizioni sulla Verticilliosi dell'olivo. *Informatore Fitopatologico* 1-2: 1001-1005.
- CIVANTOS L. 2001. La olivicultura en el mundo y en España. En: *El cultivo del olivo*. Barranco D, Fernández Escobar R, Rallo, L (eds.). Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 19-33 pp.
- CIVANTOS M. 1999. Control de plagas y enfermedades del olivar. Consejo Oleícola Internacional. Madrid, España. 207 pp.
- COI 2005. El mercado mundial del aceite de oliva. El mercado mundial de las aceitunas de mesa. *Olivae* 104:31-35.
- COLLADO ROMERO M, MERCADO BLANCO J, OLIVARES GARCIA C, VALVERDE CORREDOR A, JIMENEZ DIAZ RM. 2006. Molecular variability within and among *Verticillium dahliae* Vegetative Compatibility Groups determined by fluorescent amplified fragment length polymorphism and polymerase Chain reaction markers. *Phytopathology* 96 (5): 485-495.
- COLLINS A, OKOLI CAN, MORTON A, PARRY D, EDWARDS SG, BARBARA DJ. 2003. Isolates of *Verticillium dahliae* pathogenic to crucifers are of at least three distinct molecular types. *Phytopathology* 93: 364-376.
- CUESTA MJ, DELGADO A. 1995. Aproximación a las afecciones (plagas y enfermedades) del olivo cultivado, *Olea europaea sativa*, en el Subbético. *Boletín de Sanidad Vegetal de Plagas* 21: 539-550.
- DAAYF F, NICOLE M, GEIGER JP. 1995. Differentiation of *Verticillium dahliae* populations on the basis of vegetative compatibility and pathogenicity on cotton. *European Journal of Plant Pathology* 101: 69-79.

- DAVIS JR, SORENSEN LH, START JC, WESTERMANN DT. 1990. Fertility and management practices to control verticillium wilt of the Russet Burbank potato. *American Potato Journal* 67: 55-65.
- DE ANDRES F. 1991. Enfermedades y plagas del olivo. 2ª edición. Ed. Riquelme y Vargas, Jaén. 646 pp.
- DIANEZ F, SANTOS M, BOIX A, MARTINEZ RE, DE CARA M, TELLO JC. 2004. Efecto supresor del extracto acuoso del compost de orujo de vid frente a hongos fitopatógenos edáficos. XII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología. Gerona, España. 223 pp.
- EASTON GD, NAGLE ME, BAILEY DL. 1969. A method of estimating *Verticillium albo-atrum* propagules in field soil and irrigation water. *Phytopathology* 59: 1171-1172.
- ELENA K, PAPLOMATAS EJ. 1998. Vegetative compatibility groups within *Verticillium dahliae* isolates from different hosts in Greece. *Plant Pathology* 47 (5): 635-640.
- EMECHEBE AM, LEAKEY CLA, BANAGE WB. 1972. Verticillium wilt of cacao in Uganda: the relationship between *Verticillium dahliae* and cacao roots. *Annals of Applied Biology* 70: 157-162.
- FABI A, BELLI C, VUONO G, BALESTRA GM, VARVARO L. 2004. Innovative strategies in epidemiological studies of hazelnut dieback by using G.P.S./G.I.S. and A.Sp.I.S technology. VIth International Hazelnut Congress. Tarragona, España. *Acta Horticulture* 686: 427-433.
- FAHLESON JJ, HU Q, DIXELIUS C. 2004. Phylogenetic Analysis of *Verticillium* species based on nuclear and mitochondrial sequences. *Archives of Microbiology* 181: 435-442.
- FARLEY JD, WILHELM S, SNYDER WC. 1971. Repeated germination and sporulation of microsclerotia of *Verticillium albo-atrum* in soil. *Phytopathology* 61: 260-264.

- FITZELL R, EVANS G, FAHY PC. 1980. Studies on the colonization of plant roots by *Verticillium dahliae* Klebahn with use of immunofluorescent staining. Australian Journal of Botany 28: 357-368.
- FRADIN EF, THOMMA BPHJ. 2006. Physiology and molecular aspects of *Verticillium* wilt diseases caused by *V. dahliae* and *V. albo-atrum*. Molecular Plant Pathology 7 (2): 71-86.
- FRANCO J, BENDEZÚ E. 1985. Estudio del complejo *Verticillium dahliae* Kleb. Y *Globodera pallida* Stone y su efecto en el comportamiento de algunos cultivares peruanos de papa. Fitopatología 20: 21-27.
- GALLEGO ALVAREZ FC. 1994. La Verticilosis del olivo. Control mediante inyecciones en el tronco de Carbendazima. Fruticultura Profesional 62: 18-21.
- GEORGE L. 2001. Management of soil-borne plant pathogens with organic soil amendments: a disease control strategy salvaged from the past. Canadian Journal of Plant Pathology 23: 1-7.
- GODDARD HN. 1913. Can fungi living in agricultural soil assimilate free nitrogen?. Botanical Gazette 56: 249-305.
- GOUD JC, TERMORSHUIZEN AJ. 2003. Quality of methods to quantify microsclerotia of *Verticillium dahliae* in soil. European Journal of Plant Pathology 109: 523-534.
- GREEN RJ. 1951. Studies on the host range of the *Verticillium* that causes wilt of *Mentha piperita* L. Science 113: 207-208.
- GREEN RJ. 1957. The vertical distribution of *Verticillium albo-atrum* in muck soil and its control. Phytopathology 47: 522.
- GREEN RJ Jr, PAPAIVIZAS GC. 1968. The effect of carbon source, carbon to nitrogen ratios, and organic amendments on survival of propagules of *Verticillium albo-atrum* in soil. Phytopathology 58: 567-570.

- GROGAN RG, IOANNOU N, SCHNEIDER RW, SALL MA, KIMBLE KA. 1979. Verticillium wilt on resistant tomato cultivars in California: virulence of isolates from plants and soil and relationship of inoculum density to disease incidence. *Phytopathology* 69: 1176-1180.
- GUDMESTAD NC, ZINK TT, OTAZÚ V. 1977. North Dakota Potato wilt survey. *North Dakota Farm Research* 35: 26-31.
- GUZMAN ALVAREZ JR. 2004. Geografía de los paisajes del olivar andaluz. + CD-ROM. Sevilla, Servicio de Publicaciones. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. 199 pp.
- HAMDOLLAH ZADEH A. 1993. Properties of defoliant and non-defoliant strains of *Verticillium dahliae*, the causal agent of cotton wilt in northern Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology* 29: 53-54 .
- HARRIS DC. 1998 a. An introduction to Verticillium wilts. en: Hiemstra JA, Harris DC (eds.). A compendium of Verticillium wilts in tree species. Ponsen y Looijen. Wageningen. The Netherlands. 1-4 pp.
- HARRIS DC. 1998 b. Manipulation of *V. dahliae*. En: Hiemstra JA, Harris DC (eds.). A Compendium of Verticillium Wilts in tree Species. Ponsen y Looijen. Wageningen. The Netherlands 49-50 pp.
- HARRIS DC, YANG JR. 1996. The relationship between the amount of *Verticillium dahliae* in soil and the incidence of strawberry wilt as a basis for disease risk prediction. *Plant Pathology* 45: 106-114.
- HAWKSWORTH DL, TALBOYS PW. 1970. *Verticillium dahliae*. CMI (Commonwealth Mycological Institute) Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 256. CAB International, Wallingford, UK.
- HEALE JB. 1997. Diversification and speciation in Verticillium. An overview. En: Tjamos EC, Rowe RC, Heale JB, Fravel DR. (eds.). *Advances in Verticillium. Research and Disease Management*. American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN. 1-14 pp.

- HEALE JB. 1988. *Verticillium* spp., the cause of vascular wilts in many species. *Advances in Plant Pathology* 6: 291-312.
- HEALE JB. 2000. Diversification and speciation in *Verticillium*—an overview. En: Tjamos EC, Rowe RC, Heale JB, Fravel DR. (eds.). *Advances in Verticillium Research and Disease Management*. American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN.
- HIEMSTRA J. 1998. Some general features of *Verticillium* wilts in trees. En: Hiemstra JA, Harris DC. (eds.). *A compedium of Verticillium wilts in tree species*. Ponsen y Looijen. Wageningen. The Netherlands. 5-12 pp.
- HIEMSTRA J, HARRIS D. 1998. *Compendium of Verticillium Wilt in Tree Species*. Wageningen, The Netherlands, Posen & Looijen.
- HUGHES SJ. 1951. Studies on microfungi. XI. Some hyphomycetes which produce phialides. *Mycological Papers* 45: 1-36.
- HUISMAN OC. 1978. Root colonization by fungi: an approach to estimating rhizosphere dimensions. *Phytopathology News* 12: 209.
- HUISMAN OC. 1982. Interrelations of root growth dynamics to epidemiology of root-invading fungi. *Annual Review of Phytopathology* 20: 303-327.
- HUTCHINSON CM, MCGIFFEN ME JR, D OHR H, SIMS JJ, BECKER JO. 2000. Efficacy of methyl iodide and synergy with chloropicrin for control of fungi. *Pest Management Science* 56: 413-418.
- ISAAC I. 1953. A further comparative study of pathogenic isolates of *Verticillium*; *V. nubilum* Pethybr. and *V. tricorpus* sp. nov. *Transactions of the British Mycological Society* 36: 180-185.
- JACKSON CW, HEALE JB. 1985. Relationship between DNA content and spore volume in sixteen isolates of *Verticillium lecanii* and two new diploids of *V. dahliae* (= *V. dahliae* var. *Longisporum* Stark). *Journal General Microbiology* 131: 3229-3236.

- JIMENEZ DIAZ RM. 1997. Importancia y perspectivas de control de la Verticilosis del olivar. *Phytoma España* 88:14-26.
- JIMENEZ DIAZ RM. 2002. Agricultura Sostenible para satisfacer los Retos Ambientales de la Producción Agrícola. (En línea). Libro Blanco de Agricultura y Desarrollo Rural. (Ref. Agosto 2006). Disponible en Web:
http://www.libroblancoagricultura.com/libroblanco/jtematica/aspectos_medioamb/ponencias/pdf/jdiaz.pdf
- JIMENEZ DIAZ RM. 2003. Retos de la fitopatología para la práctica de la sanidad vegetal en la agricultura sostenible en el siglo XXI. 8º Symposium Nacional de Sanidad Vegetal. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Sevilla, España.
- JIMENEZ DIAZ RM. 2004. ¿Soluciones simples para problemas complejos? *Phytoma España*. 163:13.
- JIMENEZ DÍAZ RM, BLANCO LÓPEZ MA, CABALLERO REIG JM. 1984. La Verticilosis del olivo en Andalucía: Agente, Sintomatología y Distribución. *Comunicaciones Agrarias, Serie: Protección Vegetal* 1: 32 pp.
- JIMENEZ DIAZ RM, CASTILLO P, NAVAS CORTES JA. 2004. Muestreo, cuantificación y caracterización patogénica de hongos y nematodos fitopatógenos en el suelo. *Phytoma España* 164: 138-142.
- JIMENEZ DIAZ RM, MERCADO BLANCO J, OLIVARES GARCIA C, COLLADO ROMERO M, BEJARANO ALCAZAR J, RODRIGUEZ JURADO D, GIMENEZ JAIME A, GARCÍA JIMENEZ J, ARMENGOL J. 2006. Genetic and Virulence Diversity in *Verticillium dahliae* Populations Infecting Artichoke in Eastern-Central Spain. *Phytopathology* 96 (3): 288-298.
- JIMENEZ DIAZ RM, RODRIGUEZ JURADO D, NAVAS CORTES JA, MERCADO BLANCO J, TRAPERO CASAS JL. 2003. Estrategias de control de la Verticilosis del olivo. *Vida Rural* 176: 36-40.
- JIMENEZ DIAZ RM, TJAMOS EC, CIRULLI M. 1998. Verticillium wilt of major tree hosts. Olive. En: Hiemstra JA, Harris DC (eds.). *A compedium of Verticillium*

- wilts in tree species. Ponsen y Looijen. Wageningen. The Netherlands. 13-16 pp.
- JOAQUIM TR, ROWE RC. 1990. Reassessment of vegetative compatibility relationships among strains of *Verticillium dahliae* using nitrate-nonutilizing mutants. *Phytopathology* 80: 1160-1166.
- KARACA I, KARCIHOĞLU A, CEILAN S. 1971. Wilt disease of cotton in the Ege region of Turkey. *Journal of Turkish Phytopathology* 1: 4-11.
- KARAGIANNIDIS N, BLETSOS F, STAVROPOULOS N. 2002. Effect of *Verticillium* wilt (*Verticillium dahliae* Kleb.) and mycorrhiza (*Glomus mosseae*) on root colonization, growth and nutrient uptake in tomato and eggplant seedlings. *Scientia Horticulturae* 94 (1-2): 145-156.
- KARAPAPA VK, BAINBRIDGE BW, HEALE JB, 1997. Morphological and molecular characterization of *Verticillium longisporum* comb. nov., pathogenic to oilseed rape. *Mycological Research* 101: 1281-94.
- KATAN T. 1997. Vegetative compatibility in populations of *Verticillium* - An overview. En: Tjamos EC, Rowe RC, Heale JB y Fravel DR. (eds.) *Advances in Verticillium. Research and Disease Management*. APS Press, St. Paul, Minnesota. 69-86 pp.
- KATSANTONIS D, HILLOCKS RJ, GOWEN S. 2005. Enhancement of germination of spores of *Verticillium dahliae* and *Fusarium oxysporum f.sp. vasinfectum* in vascular fluid from cotton plants infected with the root-knot nematode. *Phytoparasitica* 33: 215-224.
- KEYS A. 1970. Coronary heart disease in seven countries. *Circulation*, 41(Suppl 1): 1-211.
- KLEBAHN H. 1913. Beitrage zur kenntnis der fungi iimperfecti. I. Eine *Verticillium* krankheit auf dahlien. *Mycologisches Centralblatt* 3: 49 - 66.
- KOPS JMH, TILMAN D, HADDAD NM, NAEEM S, MITCHELL CE, HAARSTAD J, RITCHIE ME, HOWE KM, REICH PB, SIEMANN E, GROTH J. 1999. Effects of

plants species richness on invasion dynamics, disease outbreaks, insect abundantes and diversity. *Ecology Letters* 2: 286-293.

KOROLEV N, KATAN J, KATAN T. 1999. New *Verticillium dahliae* Pathotype Highly Aggressive to Cotton in Israel. The 20th Congress of the Israeli Phytopathological Society. 144 pp.

KOROLEV N, PÉREZ ARTÉS E, BEJARANO ALCÁZAR J, RODRÍGUEZ JURADO D, KATAN J, KATAN T, JIMÉNEZ DÍAZ RM. 2001. Comparative study of genetic diversity and pathogenicity among populations of *Verticillium dahliae* from cotton in Spain and Israel. *European Journal of Plant Pathology* 107: 443–456.

KOTKON JB, ROUSE DI. 1984. Root deterioration in the potato early dying syndrome. Causes and effects of root biomass reductions associated with colonization by *Verticillium dahliae*. *American Potato Journal* 61: 557-568.

KRIKUN J, ORION D. 1978. Verticillium Wilt: Importance and Control. En: Report of the Planning Conference on Control of Important Fungal Diseases of Potato. Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Perú. 110-123 pp.

LACY ML, HORNER CE. 1966. Behaviour of *Verticillium dahliae* in the rhizosphere and on roots of plants susceptible, resistant, and immune to wilt. *Phytopathology* 56: 427-430.

LAZAROVITS G. 2001. Management of soil-borne plant pathogens with organic soil amendments: a disease control strategy salvaged from the past. *Canadian Journal of Plant Pathology* 23: 1-7.

LAZAROVITS G, CONN KL, TENUTA M. 2000. Control of *Verticillium dahliae* with soil amendments: efficacy and mode of action. En: Tjamos EC, Rowe RC, Heale JB, Fravel D (eds.). *Advances in Verticillium research and disease management. Proceedings of the Seventh International Verticillium Symposium*. American Phytopathological Society Press, St. Paul, Minn. 274-291 pp.

LEINHOS GME, BUCHENAUER H. 1992. Hyperparasitism of selected fungi on rust fungi of cereal. *Journal of Plant Diseases and Protection* 99: 482-498.

- LEON GALLEGO M. 2000. Etiología e importancia de la "seca" del olivar en la comarca de la sierra de Cádiz. Trabajo Profesional Fin de Carrera, Universidad de Córdoba, 114 pp.
- LESLIE F. 1993. Fungal vegetative compatibility. *Annual Review of Phytopathology* 31: 127-150.
- LEVIN A, TSROR L. 2002. Epidemiology of *Verticillium dahliae* on olive. *Phytoparasitica* 30 (3): 21.
- LEVIN AG, LAVEE S, TSROR (LAHKIM) L. 2003. Epidemiology of *Verticillium dahliae* on olive (cv. Picual) and its effect on yield under saline conditions. *Plant Pathology* 52 (2): 212-218.
- LEVY J, ISAAC I. 1976. Colonization of host tissue of varying resistance to *Verticillium dahliae*. *Transactions of the British Mycological Society* 67: 91-94.
- LI KN, ROUSE DI, EYESTONE EJ, GERMAN TL, 1999. The generation of specific DNA primers using random amplified polymorphic DNA and its application to *Verticillium dahliae*. *Mycological Research* 103: 1361-1368.
- LI KN, ROUSE DI, GERMAN TL, 1994. PCR primers that allow intergeneric differentiation of Ascomycetes and their application to *Verticillium* spp. *Applied and Environmental Microbiology* 60: 4324-4331.
- LICERAS RUIZ A. 1993. El olivar en la provincia de Granada. Ed. Grupo de Investigación Meridiano. Departamento Didáctico de Ciencias Sociales, Universidad de Granada. Granada. 285 pp.
- LOPEZ ESCUDERO FJ. 1999. Evolución de la resistencia de olivo a las variantes patogénicas de *Verticillium dahliae* y eficacia de la solarización en el control de la Verticilosis. Tesis Doctoral, Universidad de Córdoba.
- LOPEZ ESCUDERO FJ, BLANCO LOPEZ MA. 1999. First Report of Transmission of *Verticillium dahliae* by Infested Manure in Olive Orchards in Andalucía (Southern Spain). *Plant Disease* 83 (12): 1178 pp.

- LOPEZ ESCUDERO FJ, BLANCO LOPEZ MA. 2001. Effect of a single or double soil solarization to control *Verticillium* wilt in established olive orchards in Spain. *Plant Disease* 85: 489-496.
- LOPEZ ESCUDERO FJ, BLANCO LOPEZ MA. 2005 a. Recovery of Young Olive Trees from *Verticillium dahliae*. *European Journal of Plant Pathology* 113 (4): 367-375.
- LOPEZ ESCUDERO FJ, BLANCO LOPEZ MA. 2005 b. Effects of drip irrigation on population of *Verticillium dahliae* in olive orchards. *Journal of Phytopathology* 153: 238-239.
- LOPEZ ESCUDERO FJ, BLANCO LOPEZ MA, JIMÉNEZ DÍAZ RM. 1996. Identificación de la resistencia o tolerancia de cultivares de olivo a patotipos de *Verticillium dahliae*. Resúmenes del VII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología. Córdoba, España. 224 pp.
- LOPEZ ESCUDERO FJ, DEL RIO C, CABALLERO JM, BLANCO LOPEZ MA. 2004. Evaluation of Olive Cultivars for Resistance to *Verticillium dahliae*. *European Journal of Plant Pathology* 110 (1): 79-85.
- LOPEZ ESCUDERO FJ, NUÑEZ SANTOS D, BLANCO LOPEZ MA. 2003. Aislamiento de *Verticillium dahliae* de suelo y caracterización morfológica de sus microesclerocios. *Boletín de Sanidad Vegetal de Plagas* 29: 613-626.
- LOUSSERT R, BROUSSE G. 1980. El olivo. Ed. Mundi-Prensa, Madrid. 533 pp.
- LU JY, CAO YQ, WANG KR, QU LH, FANG ZD. 1987. Distribution of different virulent types of *Verticillium dahliae* Kleb. in Jiangsu. *Acta Phytophylactica Sinica* 14: 221-224.
- LUIGI T. 1995. Practical methods for the isolation of endophytic fungi. En: Procedures for the isolation and taxonomic characterization of fungi from natural substrate. Premeeting workshop San Jose State, San Jose CA.
- MAPA 1976. Inventario Agronómico del olivar V: Provincia de Granada. Publicaciones del Ministerio de Agricultura. Madrid: 167 pp.

- MAPA 1989. Memoria del Mapa de Suelos de Andalucía. Ministerio de Agricultura y Pesca. (CSIC - IARA,) (escala 1:400.000).
- MAPA 1996. Comarcalización Agraria de España. Cartografía. Ministerio de Agricultura y Pesca.
- MARTIN PEREZ J, RUBIO CAMPOS JC, PASTOR MUÑOZ COBO M. 2005. Estructura del regadío de olivar en Andalucía y origen y disponibilidad de agua para riego. En: "Cultivo del olivo con riego localizado". Muñoz Cobo Pastor M (ed.). Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía Ediciones Mundi-Prensa. 17-37 pp.
- MARTINEZ DE VICTORIA E, MAÑAS M. 2001, El aceite de oliva en la dieta y en la salud humanas. En: El cultivo del olivo. 4ª edición. Barranco D, Fernández Escobar R, Rallo L. (eds). Ediciones Mundi-Prensa. 663-684 pp.
- MARTINEZ RAYA A, SANCHEZ BLANQUEZ J. 2004. El riego del olivar en la provincia de Granada. Ed. Caja Rural de Granada, Granada. 120 pp.
- MARTOS MORENO C. 2003. Resistencia de cultivares de olivo al aislado defoliante de *Verticillium dahliae* Kleb y reducción de la enfermedad por la infección previa con el aislado no defoliante. Tesis Doctoral, Universidad de Córdoba.
- MARTOS MORENO C, BLANCO LOPEZ MA. 2001. Epidemiological behaviour of olive cultivars in orchards infested with mixtures of defoliating and non-defoliating isolates of *Verticillium dahliae*. En: Proceedings of the 8th International Verticillium Symposium. Córdoba, España.
- MATAIX J. 2001. Calidades de los aceites de oliva. En: Libro 1. Aceite de oliva virgen: nuestro patrimonio alimentario. Ed. Universidad de Granada y Puleva Food. 101-155 pp.
- MATHRE DE, ERWIN DC, PAULUS AO, RAVENSCROFT AV. 1966. Comparison of the virulence of isolates of *Verticillium albo-atrum* from several of the cotton growing regions of the United States, Mexico and Peru. Plant Disease Reporter 50: 930-933.

- MELERO VARA JM, BLANCO LÓPEZ MA, BEJARANO ALCÁZAR J. 1995. Control of Verticillium wilt of cotton by means of soil solarization and tolerant cultivars in southern Spain. *Plant Pathology* 44: 250-260.
- MENDIZABAL M. 1994. Nota previa sobre la *Euzophera nelliella* Rag. (Lep. Pyralidae), nueva plaga del olivo en Andalucía oriental. *Boletín de Patología Vegetal y Entomología Agrícola* 13: 471-476.
- MERCADO BLANCO J, COLLADO ROMERO M, PARRILLA ARAUJO S, RODRIGUEZ JURADO D, JIMENEZ DIAZ RM. 2003 b. Quantitative monitoring of colonization genotypes by *Verticillium dahliae* pathotypes with real-time polymerase chain reaction. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 63: 91-105.
- MERCADO BLANCO J, RODRIGUEZ JURADO D, HERVAS A, JIMENEZ DIAZ RM. 2004. Suppression of Verticillium wilt in olive planting stocks by root-associated fluorescent *Pseudomonas* spp. *Biological Control* 30: 474-486.
- MERCADO BLANCO J, RODRIGUEZ JURADO D, PARRILLA ARAUJO S, JIMENEZ DIAZ RM. 2003 a. Simultaneous detection of the defoliating and nondefoliating *Verticillium dahliae* pathotypes in infective olive plants by duplex, nested polimerase chain reaction. *Plant Disease* 87: 1487-1494.
- MERCADO BLANCO J, RODRIGUEZ JURADO D, PEREZ ARTES E, JIMENEZ DIAZ R. 2001. Detection of the nondefoliating pathotype of *Verticillium dahliae* in infected olive plants by nested PCR. *Plant Pathology* 50: 609-619.
- MERCADO BLANCO J, RODRIGUEZ JURADO D, PEREZ ARTES E, JIMENEZ DIAZ R. 2002. Detection of the defoliating pathotype of *Verticillium dahliae* in infected olive plants by nested PCR. *European Journal of Plant Pathology* 108: 1-13.
- MONTIEL BUENO A. 1997. "Manejo integrado del cultivo del olivo". Curso superior para postgraduados: Universidad de Jaén y Delegación Provincial de la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía. Jaén, España.
- MONTIEL BUENO A. 1998. Olivicultura tradicional, olivicultura sostenible. *Agricultura* 795 (67): 802-804.

- MOPT 1992. Guía para la elaboración de estudios del medio físico. Contenido y Metodología. Ministerio de Obras Públicas y Transportes.
- MORERA B, PAEZ JI, VEGA JM, MONTES F. 2005. Comparación de métodos de diagnóstico de *Verticillium dahliae* en olivo: aislamiento en medio de cultivo y PCR. Boletín de Sanidad Vegetal de Plagas 31: 267-275.
- MORSCHER JR. 1961. Recorded Plant Diseases In and Outside Australia. Part 2 - Fruit and Edible Nut Crops. Commonwealth Department of Health Division of Plant Quarantine, Canberra 113 pp.
- MPOFU SI, HALL R. 2003. Accuracy and precision of population estimates of *Verticillium dahliae* on growth media in quantitative soil assays. Canadian Journal of Botany 81: 294-306.
- MULE R, FODALE AS, TUCCI A. 2002. Control of olive *Verticillium* wilt by trunk injection with different doses of fosetyl-al and benomyl. En: Vitagliano C, Martelli GP. (eds.). Proceedings of the IV International Symposium on Olive Growing.
- NAGTZAAM MPM, BOLLEN GJ, TERMORSHUIZEN AJ. 1998. Efficacy of *Talaromyces flavus* alone and in combination with other antagonists in controlling *Verticillium dahliae* in growth chamber experiments. Phytopathologische Zeitschrift 146: 165-173.
- NARISAWA K, KAWAMATA H, CURRAH R S, HASHIBA T. 2002. Suppression of *Verticillium* wilt in eggplant by some fungal root endophytes. European Journal of Plant Pathology 108: 103-109.
- NASER Z, AL-RADDAD AL-MOMANY A. 1998. Dissemination factors of *Verticillium* wilt of olive in Jordan. Dirasat Journal. Agricultural Sciences 25 (1): 16- 21.
- NAVARRO C, FERNANDEZ ESCOBAR R, BENLLOCH M. 1992. A low-pressure, trunk-injection method for introducing chemical formulations into olive trees. Journal of the American Society of Horticultural Science 117 (2): 357-360.

- NAVARRO C, PARRA MA. 2001. Plantación. En: El cultivo del olivo. 4ª edición Barranco D, Fernández Escobar R, Rallo L. (eds). Ed. Mundi-Prensa. 70-213 pp.
- NAVAS CORTES JA, TRAPERO CASAS JL. 2002. Desarrollo espacio-temporal de epidemias de Verticilosis en una plantación de olivo. XI Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Almería, España. 14 pp.
- NAZAR RN, HU X, SCHMIDT J, CULHAM D, ROBB J. 1991. Potential use of PCR amplified ribosomal intergenic sequences in the detection and differentiation of *Verticillium* wilt pathogen. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 39: 1-11.
- NICO A I, RAPOPORT HF, JIMENEZ DIAZ RM, CASTILLO P. 2002. Incidence and population density of plant-parasitic nematodes associated with olive planting stocks at nurseries in southern Spain. *Plant Disease* 86: 1075-1079.
- NICOT PC, ROUSE DI. 1987. Relationship between soil inoculum density of *Verticillium dahliae* and systemic colonization of potato stems in commercial fields over time. *Phytopathology* 77: 1346-1355.
- NIGRO F, GALLOTE P, ROMANAZZI, G, SCHENA L, IPPOLITO A, SALERNO MG. 2005. Incidence of *Verticillium* Wilt on olive in Apulia and genetic diversity of *Verticillium dahliae* isolates from infected trees. *Journal of Plant Pathology* 87 (1): 13-23.
- OLIVIER C, VAUGHN SF, MIZUBUTI ESG, LORIA R. 1999. Variation in allyl isothiocyanate production within *Brassica* species and correlation with fungicidal activity. *Journal of Chemical Ecology* 25 (12): 2687-2701.
- ORTEGA A, RUBIO R, GARCIA MOLINA L, VICENT A, BELTRAN R, ARMENGOL J, GARCIA JIMENEZ J. 2004. Seasonal variation of *Verticillium dahliae* isolation from artichoke. *Acta Horticulturae* 660: 517-522.
- OTERO L, DUCASSE D, MILLER RNG. 2004. Variability in Ribosomal DNA Genic and Spacer Regions in *Verticillium dahliae* Isolates from Different Hosts. *Fitopatologia Brasileira* 29 (4): 441-446.

- PARRILLA ARAUJO MS. 2001. Diagnóstico molecular mediante PCR (Polymerase Chain Reaction) de los patotipos defoliante y no defoliante de *Verticillium dahliae* en plantas de diferentes cultivares de olivo (*Olea europaea* L.). Proyecto Fin de Carrera, Universidad de Córdoba, España.
- PASTOR M, 1986. La nueva olivicultura. *Olea*, 17 (12): 111-120.
- PASTOR M, CASTRO J, MARISCAL MJ, VEGA V, ORGAZ, F, FERERES E, HIDALGO, J. 1999. Respuesta del olivar tradicional a diferentes estrategias y dosis de agua de riego. *Investigación Agraria: Producción y Protección Vegetal* 14: 393-404.
- PASTOR MUÑOZ COBO M, HIDALGO MOYA JC, VEGA MACIAS V, FERERES CASTIEL E. 2006. Densidades de plantación en olivar de regadío. El caso de las plantaciones superintensivas en Andalucía. *Fruticultura* 160: 27-42.
- PEGG GF. 1984. The impact of verticillium diseases in agriculture. *Phytopathologia Mediterranea* 23: 176-192.
- PEGG GF, BRADY BL. 2002. *Verticillium wilts*. Wallingford, UK: CAB Internacional.
- PEREZ ARTES E, GARCIA PEDRADAS MD, BEJARANO ALCAZAR J, JIMENEZ DIAZ RM. 2000. Differentiation of cotton-defoliating and nondefoliating pathotypes of *Verticillium dahliae* by RAPD and specific PCR analyses. *European Journal of Plant Pathology* 106: 507-517.
- PEREZ ARTES E, MERCADO BLANCO J, RUZ CARRILLO AR, RODRIGUEZ JURADO D, JIMENEZ DIAZ RM 2005. Detection of the defoliating and nondefoliating pathotypes of *Verticillium dahliae* in artificial and natural soils by nested PCR. *Plant and Soil* 268: 349-356.
- PEREZ MARTINEZ P, PEREZ JIMENEZ F, BELLIDO C, ORDOVAS JM, MORENO JA, MARIN C, GOMEZ P, DELGADO LISTA J, FUENTES F, LOPEZ MIRANDA J. 2005. A Polymorphism Exon 1 Variant at the Locus of the Scavenger Receptor Class B Type I (SCARB1) Gene Is Associated with Differences in Insulin Sensitivity in Healthy People during the Consumption of an Olive Oil-Rich Diet. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 90 (4): 2297 - 2300.

- PERRY JW, EVERT RF. 1983. The effect of colonization by *Verticillium dahliae* Kleb. on the root tips of Russet Burbank potatoes. Canadian Journal of Plant Pathology 61: 3422-3429.
- PETHYBRIDGE GH. 1919. Notes on some saprophytic species of fungi associated with diseased potato plants and tubers. Transactions of the British Mycological Society 6: 104-120.
- PORRAS SORIANO A, MARCILLA GOLDARACENA I, SORIANO MARTIN ML, PORRAS PIEDRA A. 2006. Development and resistance to *Verticillium dahliae* of olive plants inoculated with mycorrhizal fungi during the nursery period. Journal of Agricultural Science 144 (2): 151-157.
- PORRAS SORIANO A, SORIANO MARTIN ML, PORRAS PIEDRA A. 2003. Grafting olive cv. Cornicabra on rootstocks tolerant to *Verticillium dahliae* reduces their susceptibility. Crop Protection 22 (2): 369-374.
- PUHALLA JE. 1979. Classification of isolates of *Verticillium dahliae* based on heterokaryon incompatibility. Phytopathology 69 :1186-1189.
- PUHALLA JE, HUMMEL M, 1983. Vegetative compatibility groups within *Verticillium dahliae*. Phytopathology 73. 1305-1308.
- RAEA 2001. Catálogo de ensayos de RAEA de olivar. (En línea) (Ref. enero 2006). Disponible en Web:
http://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/portal/www/portal/com/bin/portal/Olivar/info_portal/catalogo.pdf#search=%22CAT%C3%81LOGO%20DE%20ENSAYOS%20de%20RAEA%20DE%20OLIVAR%22
- RAHIMIAN MK, MITCHELL J. E. 1984. Relationship of *Verticillium dahliae* and *Erwinia carotovora pv. carotovora* in the early dying disease of potatoes. Phytopathology 74: 327-332.
- RALLO L. 2005. Variedades de olivo en España: Una aproximación cronológica. En: Rallo L, Barranco D, Caballero JM, Del Río C, Martín A, Tous J, Trujillo I. (eds.). Variedades de olivo en España (Antecedentes y Presentación). Ed. Junta de Andalucía, MAPA y Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 15-44 pp.

- RALLO L, BARRANCO D, CABALLERO JM, DEL RIO C, MARTIN A, TOUS J, TRUJILLO I. 2005. Variedades de olivo en España. Ed. Junta de Andalucía, MAPA y Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- RAPOPORT HF. 2001. Botánica y morfología. En: Barranco D, Fernández Escobar R, Rallo L. (eds.). El cultivo del olivo. 4ª edición. Ed. Mundi-Prensa. 215-254 pp.
- RAYA ORTEGA MC. 2005. Resistencia de olivo a *Phytophthora* spp. y *Verticillium dahliae*. Tesis Doctoral, Universidad de Córdoba. España.
- RAYA ORTEGA MC, MARTOS MORENO C, LOPEZ ESCUDERO FJ, BLANCO LOPEZ MA. 2005. Resistencia del olivo a la Verticilosis causada por "*Verticillium dahliae*". Vida rural 208 (12): 48-55.
- REINKE J, BERTHOLD G. 1879. Die zersetzung der kartoffel durch pilze. Untersuchungen aus dem Botanischen Laboratorium der Universität Göttingen 1: 67-96.
- REYES JM, SANTOS M, DE CARA M, SEGURA JM, DIANEZ F, BLANCO R, SANCHEZ JA, TELLO JC. 2004. Métodos de asilamiento de *Verticillium dahliae* en olivo. XI Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Almería, España. 165 pp.
- RIEDEL RM, ROWE RC. 1985. Lesion nematode involvement in potato early dying disease. American Potato Journal 62: 163-172.
- RODRIGUEZ E, CAMPOS M, FERNANDEZ ML, OCAMPO JA, GARCIA GARRIDO JM. 2005. Detection of *Verticillium dahliae* in irrigation water. 2nd European Meeting of the IOBC/WPRS study group "Integrated Protection of Olive Crops". Florencia, Italia. 71 pp.
- RODRIGUEZ E, GARCIA GARRIDO J, OCAMPO JM, CAMPOS M. 2004. Resultados preliminares sobre la Verticilosis del olivo en la provincia de Granada. XII Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Gerona, España. 209 pp.

- RODRIGUEZ JURADO D. 1993. Interacciones huésped-parásito en la marchitez del olivo (*Olea europaea* L.) inducida por *Verticillium dahliae* Kleb. Tesis doctoral, Universidad de Córdoba, España.
- RODRIGUEZ JURADO D, PORRAS ALONSO R, TRAPERO CASAS JL, JIMENEZ DIAZ RM. 2002. Potencial de las hojas de olivo caídas tras la infección por el patotipo defoliante de *Verticillium dahliae* como fuente de inóculo en las epidemias de Verticilosis. XI Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Almería, España. 228 pp.
- RODRIGUEZ MORCILLO V, BEJARANO ALCAZAR J, JIMENEZ DIAZ RM. 2002. Gama de plantas huésped de los patotipos de *Verticillium dahliae* que infectan algodón y olivo en España. XI Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología, Almería, España. 229 pp.
- ROWE RC. 1995. Recent progress in understanding relationships between *Verticillium* species subspecific groups . *Phytoparasitica* 23: 31-38.
- RUGGIERI G. 1946. Una nuova malattia dell'olivo. *L'Italia Agricola* 83: 369-372.
- SAMBROOK J, FRITSCH EF, MANIATIS T. 1989. Molecular cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed. Cold Spring Harbor, N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- SANCHEZ HERNANDEZ ME, PEREZ DE ALGABA A, BLANCO LOPEZ MA, TRAPERO CASAS A. 1998. La seca de olivos jóvenes I: Sintomatología e incidencia de los agentes asociados. *Boletín de Sanidad Vegetal* 24: 551-572.
- SANCHEZ HERNANDEZ ME, RUIZ DAVILA A, PEREZ DE ALGABA A, BLANCO LOPEZ MA, TRAPERO CASAS A. 1998a. Occurrence and etiology of death of young olive trees in southern Spain. *European Journal of Plant Pathology* 104: 347-357.
- SANCHEZ MI, PASTOR M, TRAPERO A. 2004. Efecto de la densidad de plantación y de la altura del fruto en el árbol sobre la incidencia de la antracnosis del olivo. XII Congreso de la sociedad española de fitopatología. Gerona, España. 212 pp.

- SAYDAN C, COPCU M. 1972. Verticillium wilt of olives in Turkey. Journal of Turkish Phytopathology 1: 45-49.
- SCHÄFER SCHUCHARDT H. 1996. Expansión cultural y artística. En: Enciclopedia Mundial del Olivo (Capítulo 1: Evolución e Historia). Ed. Consejo Oleícola Internacional. Madrid. 21-26 pp.
- SCHNATHORST WC. 1973. Additional strains of *Verticillium dahliae* from cotton in California. En: Proceedings of the Beltwide Cotton Production Research Conferences Natl. Cotton Counc. Am. Memphis, TN. 22-23 pp.
- SCHNATHORST WC. 1981. Life cycle and epidemiology of Verticillium. In: Fungal Wilt Diseases of Plants. Mace ME, Bell A, Beckman CH, (Eds). Academic Press, New York. 81-111 pp.
- SCHNATHORST WC, MATHRE DE. 1966. Host range and differentiation of a severe form of *Verticillium albo-atrum* in cotton. Phytopathology 56: 1155-1161.
- SCHNATHORST WC, SIBBETT GS. 1971. The relation of strain of *Verticillium albo-atrum* to severity of verticillium wilt in *Gossypium hirsutum* and *Olea europaea* in California. Plant Disease Reporter 9: 780-782.
- SCHNEIDER H. 1948. Susceptibility of guayule to Verticillium wilt and influence of soil temperature and moisture on development of infection. Journal of Agricultural Research 76: 129-143.
- SCHREIBER LR, GREEN RJ Jr. 1963. Effect of root exudates on germination of conidia and microsclerotia of *Verticillium albo-atrum* inhibited by the soil fungistatic principle. Phytopathology 53: 260-264.
- SEGOVIA A. 2003. Sector Oleícola mundial: Situación actual y perspectivas. (En línea) (Ref. enero 2006). Disponible en Web: <http://www.agroinformacion.com/leer-articulo.aspx?not=240>
- SERRIHINI MN, ZEROUAL A. 1995. La Verticilosis del olivo en Marruecos. Olivae 58: 58-61.

- SHURTLEFF MC, AVERRE CW. 1999. The plant disease clinic and field diagnosis of abiotic diseases. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, APS Press. 245 pp.
- SNYDER WC, HANSEN HN, WILHELM S. 1950. New host of *Verticillium albo-atrum*. Plant Disease Reporter 34: 26-27.
- STARK C. 1961. Das Auftreten der Verticillium: Tracheomykosen in Hamburger Gartenbaukulturen. Gartenbauwissenschaft 26: 493-528.
- STILES C, MOMOL M, ROBERTS P, MILLAN R Mc, CULLEN R, SIMONE G. Plant Simple Submission and Diagnosis. (En línea) (Ref. Junio 2006). Florida Extension Plant Disease Clinic Net work. Disponible Web: <http://edis.ifas.ufl.edu>.
- SUBBARAO K. 2002. Methyl Bromide Alternatives - Meeting the Deadlines. Phytopathology 92 (12): 1334-1336.
- SUBBARAO KV, CHASSOT A, GORDON TR, HUBBARD JC, BONELLO P, MULLIN R, OKAMOTO D, DAVIS RM, KOIKE ST. 1995. Genetic relationships and cross pathogenicities of *Verticillium dahliae* isolates from cauliflower and other crops. Phytopathology 85: 1105-1112.
- TAPIA GRANADOS JA. 1995. Medidas de prevalencia y relación incidencia-prevalencia. Medicina Clínica 105: 216-218.
- TERMORSHUIZEN AJ, DAVIS JR, GORT G, HARRIS DC, HUISMAN OC, LAZAROVITS G, LOCKE T, MELERO VARA JM, MOL L, PAPLOMATAS EJ, PLATT HW, POWELSON M, ROUSE DI, ROWE RC, TSROR L. 1998. Interlaboratory comparison of methods to quantify microsclerotia of *Verticillium dahliae* in soil. Applied and Environmental Microbiology 64: 3846-3853.
- THANASSOULOPOULOS CC. 1993. Spread of Verticillium wilt by nursery plants in olive grows in the Chalkidiki area (Greece). Bull OEPP/EPPO Bull 23: 517-520.
- THANASSOULOPOULOS CC, BIRIS DA, TJAMOS EC. 1979. Survey of Verticillium wilt of olive trees in Greece. Plant Disease Reporter 63: 936-940.

- THANASSOULOPOULOS CC, BIRIS DA, TJAMOS EC. 1981. Dissemination of *Verticillium* propagules in olive orchards by irrigation water. Proceedings of the 5th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union. Patras, Greece. 52-53 pp.
- TJAMOS EC. 1993. Prospects and strategies in controlling *Verticillium* wilt of olive. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 23: 505-512.
- TJAMOS SE, FLEMETAKIS E, PAPLOMATAS EJ, KATINKAS P. 2005. Induction of resistance to *Verticillium dahliae* in *Arabidopsis thaliana* by the biocontrol agent K-165 and pathogenesis-related proteins gene expression. Molecular Plant-Microbe Interactions 6: 555-561.
- TJAMOS EC, JIMENEZ DIAZ RM. 1998. Management of disease. Technical Aspects. In: Hiemstra JA, Harris DC (eds.). A compendium of *Verticillium* wilts in tree species. Ponsen y Looijen. Wageningen. The Netherlands. 55-57 pp.
- TJAMOS EC, PAPLOMATAS EJ. 1987. Effect of soil solarization on the survival of fungal antagonist of *V. dahliae* Bull. OEPP 17: 645-653.
- TOSI L, ZAZZERINI A. 1998. An epidemiological study on *Verticillium* wilt of olive in Central Italy. Olivae 71: 50-55.
- TRAPERO A, BLANCO MA. 2001. Enfermedades. En: Barranco D, Fernández Escobar R, Rallo L (eds.). El cultivo del olivo. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 495-550 pp.
- TRIKI M A, HASSAÏRI A y MAHJOUR M. 2006. Premières observations de *Verticillium dahliae* sur olivier en Tunisie. EPPO Bulletin 36 (1). 69-71.
- TSROR L, LEVIN AG. 2003. Vegetative Compatibility and Pathogenicity of *Verticillium dahliae* Kleb. Isolates from Olive in Israel. Journal of Phytopathology 151 (7-8): 451-455.
- TYPAS MA. 1997. Molecular characterization of *Verticillium species*. (Review). En: Tjamos EC, Rowe RC, Heale JB, Fravel DR. (eds.) Advances in *Verticillium*.

- Research and Disease Management. APS Press, St. Paul, Minnesota. 32-40 pp.
- TZANAKAKIS ME. 2006. Insects and Mites Feeding on Olive. Distribution, Importance, Habits, Seasonal Development, and Dormancy. Series: Applied Entomology Library, Ed. Brill. 204 pp.
- VAN BRUGGEN WU, BMAHC, SUBBARAO KV, PENNINGGS GGH. 2001. Spatial Analysis of Lettuce Downy Mildew Using Geostatistics and Geographic Information Systems. *Phytopathology* 91: 134-142.
- VIGOUROUX A. 1975. *Verticillium dahliae* agent d'un deperissement de l'olivier en France. *Ann. Phytopathol.* 7: 37-44.
- WIDMER TL. 2000. Mechanism of Suppression of *Meloidogyne hapla* and Its Damage by a Green Manure of Sudan Grass. *Plant Disease* 84 (5): 562-568.
- WILHELM S. 1950. Vertical distribution of *Verticillium albo-atrum* in soils. *Phytopathology* 40: 776-777.
- WILHELM S. 1981. Sources and genetics of host resistance in field and fruit crops. En.: Mace ME, Belle AA, Beckman CH. (eds.). *Fungal wilt diseases of plants*. Academic Press, New York. 300- 369 pp.
- WILHELM S, TAYLOR JB, 1965. Control of *Verticillium* wilt of olive through natural recovery and resistance. *Phytopathology* 55: 310-316.
- WILLIE TD, DEVAY JE. 1970. Growth characteristics of several isolates of *Verticillium albo-atrum* and *Verticillium nigrescens* from cotton. *Phytopathology* 60: 907-910.
- XIAO CL, SUBBARAO KV. 2000. Effects of irrigation and *Verticillium dahliae* on cauliflower root and shoot growth dynamics. *Phytopathology* 90 (9): 995-1004.
- XIAO CL, SUBBARAO KV, SCHULBACH KF, KOIKE ST. 1998. Effects of crop rotation and irrigation on *Verticillium dahliae* microsclerotia in soil and wilt in cauliflower. *Phytopathology* 88: 1108-1115.

ZACHOS DG. 1963. La verticilliose de l'oliver en Grèce. Annales De L' Institut Phytopathologique Benaki (New Series) 5: 105-107.

ZARE R, GAMS W, CULHAM A. 2000. A revision of *Verticillium* sect. *Prostrata* Phylogenetic studies using ITS sequences. Nova Hedwigia 71: 465-480.